

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

LES PHÉNOMÈNES DE FERMENTATION SONT DES ACTES DE DIGESTION

NOUVELLE DÉMONSTRATION APPORTÉE PAR L'ÉTUDE DE LA DÉNITRIFICATION DANS LE RÈGNE VÉGÉTAL

par P. MAZÉ.

(Suite et fin.)

IX

Les *b.* dénitrifiants 1 et 2 produisent de l'acide nitreux aux dépens de l'acide nitrique des nitrates, dans des milieux de composition spéciale.

Lorsqu'on étudie les bacilles 1 et 2 en vue de leur faire produire de l'acide nitreux, on remarque que le bacille 1 se prête mieux à cette démonstration que le bacille 2. Chaque fois que le milieu de culture est de qualité médiocre, le bacille 1 produit de l'acide nitreux. Le bouillon de viande ordinaire sans peptone, additionné de 5 p. 1000 de nitrate de potassium, commencé avec le bacille 1, renferme au bout de quelques heures à 30 degrés des quantités très sensibles d'acide nitreux, ce qui n'empêche pas le développement d'une fermentation active; mais l'acide nitreux ne disparaît pas.

Le même milieu additionné de 2 p. 100 de saccharose réagit de la même manière, mais plus énergiquement; l'acide nitreux disparaît au bout de six jours à 30 degrés.

Le milieu minéral composé de la façon suivante :

Phosphate de K.	1 »	Carbonate de calcium.	1 »
Sulfate de magnésium.	0,5	Glucose	20 »
Sulfate ferreux	0,02	Nitrate de sodium.	5 »
Chlorure de sodium.	0,02	Eau distillée.	1.000 »

ensemencé avec *b. 1*, contient de l'acide nitreux au bout de quarante-huit heures; la fermentation est lente, mais elle est suffisante pour détruire tout le nitrate et le nitrite résultant au bout de dix à douze jours à la température de 30 degrés.

Le *b. 2* soumis aux mêmes influences n'a jamais produit d'acide nitreux; il semble donc plus rustique que le *b. 1* qui offre, on le voit, les plus grandes analogies avec le *bacillus denitrificans* de Gayon et Dupetit.

Il résulte de ces faits, si toutefois l'épithète médiocre appliquée aux milieux précédents est juste, que pour provoquer la formation d'acide nitreux aux dépens de l'acide nitrique il suffit de gêner le développement des dénitrifiants. Comme le *b. 2* semble assez résistant aux divers facteurs qui agissent sur le *b. 1*, j'ai tenu à examiner l'influence de la concentration du nitrate de potassium; le bouillon de haricot avec 2 p. 100 de saccharose, qui convient le mieux à l'un et à l'autre microbes, m'a fourni les résultats suivants :

TABLEAU VIII.

Concentration en nitrate. .	1 p. 100	2 p. 100	5 p. 100	8 p. 100
<i>Bacille n° 1.</i>	—	—	—	—
Action sur le nitrate . .	Fermente.	Fermente.	Ne fermente pas.	Ne fermente pas.
Réaction nitreuse. . . .	0	0	+	+
Temps employé à la destruction du nitrate . .	2 jours.	7 jours.	»	»
<i>Bacille n° 2.</i>				
Action sur le nitrate . .	Fermente.	Fermente.	Ne fermente pas.	Ne fermente pas.
Réaction nitreuse. . . .	0	0	0	+
Temps employé à la destruction du nitrate . .	2 jours.	3 jours.	»	»

Le *b. 2* produit donc aussi de l'acide nitreux comme le *b. 1*, ce qui prouve que l'acide nitreux existe toujours comme terme de passage; c'est le résultat que je tenais à mettre en évi-

dence; il est probable que j'y serais parvenu encore par d'autres moyens; mais cette démonstration suffit.

Le groupe des *b. subtilis* est connu également par la propriété que possèdent ses représentants de produire de l'acide nitreux en présence de nitrates.

J'en ai examiné 17 espèces qui proviennent toutes du lait; ensemencées dans du bouillon de haricot sucré et additionné de 0,5 p. 1000 de nitrate de potassium, toutes ces espèces ne se comportent pas de façon identique vis-à-vis de l'acide nitrique.

6 produisent de l'acide nitreux; 11 n'en donnent pas; sur ces dernières 1 seule espèce produit une fermentation visible. Parmi les 11 espèces qui ne donnent pas la réaction de l'acide nitreux, 8 détruisent l'acide nitrique : 3 en trois jours, 4 en quatre jours, 1 en sept jours; l'observation n'a pas été poussée plus loin.

En présence de 5 p. 1000 de nitrate de potassium, deux espèces donnent naissance à de l'acide nitreux. Ces deux espèces sont comprises, bien entendu, parmi les onze qui ont donné une réaction nitreuse négative en présence de 0,5 p. 1000 de nitrate. Si on avait poussé plus loin la concentration en nitrate, il est probable que quelques autres représentants du groupe seraient venus grossir le nombre de ceux qui produisent de l'acide nitreux.

Les microbes aérobies se comportent donc vis-à-vis des nitrates de façons très variées, si on considère même les espèces appartenant à des groupes physiologiques très bien définis, comme celui des *b. subtilis*. La destruction des nitrates sans formation apparente de produits de passage est fréquente; mais il est probable que si on recueillait les gaz on constaterait un dégagement d'azote ou de protoxyde d'azote; la formation d'acide nitreux en quantité dosable est également commune; et là où la destruction se fait sans apparition d'acide nitreux, il est toujours possible de provoquer sa mise en liberté. Si enfin on considère une espèce dénitrifiante quelconque, la variation des termes de passage entre l'acide nitrique et l'ammoniaque est la règle; c'est la nature des milieux qui commande la nature et le nombre de ces produits, ainsi que MM. Gayon et Dupetit l'avaient déjà constaté.

Tous les résultats que je viens d'exposer peuvent être obtenus au moyen de cultures sur gélose nitrâtée. Dans ces conditions, toute influence de la privation d'oxygène doit être écartée, si bien que l'acide nitrique et l'acide nitreux disparaissent ainsi en présence de l'air dans les milieux solides, par voie d'assimilation, exactement comme les sucres. Je conseille donc d'utiliser de préférence ce mode de contrôle parce que les procédés les plus simples sont toujours les meilleurs.

Il me reste maintenant à montrer que les bacilles dénitrifiants 1 et 2 transforment une partie au moins de l'azote nitrique en ammoniacque.

Pour établir cette proposition, j'ai eu recours aux milieux minéraux; si on place les bacilles 1 et 2 dans des conditions telles qu'ils ne disposent d'aucun autre aliment azoté que l'acide nitrique, on pourra affirmer qu'une fraction sensible de cet azote passe à l'état d'ammoniacque, si la culture se développe normalement.

La solution que j'ai utilisée est celle de la page 370. Dans cette solution le bacille 1 produit de l'acide nitreux qui disparaît d'ailleurs à la longue; mais la présence de l'acide nitreux place la culture dans un état de souffrance qui enlève à la démonstration la force probante que lui donnent les cultures du bacille 2.

A côté de ces cultures, j'en ai placé d'autres, effectuées dans le même milieu additionné de 0,5 p. 1000 de sulfate d'ammoniacque; une troisième série comportait enfin l'emploi du sulfate d'ammoniacque à l'exclusion du nitrate, autre moyen détourné de prouver que l'ammoniacque est aussi un excellent aliment azoté pour les bacilles 1 et 2.

La pureté chimique du glucose vis-à-vis de ces microbes a été mise en évidence par des cultures effectuées dans le même milieu minéral privé de tout composé azoté.

Les observations relatives à ces cultures, exposées à la température de 30 degrés sont consignées dans le tableau suivant.

TABLEAU IX.

NATURE DE L'ALIMENT azoté.	NOMBRE DE JOURS écoulés avant l'apparition de la fermentation.		NOMBRE DE JOURS écoulés avant la destruction totale du nitrate.	
	Bacille 1.	Bac. 2.	Bac. 1.	Bac. 2.
I. $\text{So}^4(\text{AzH}^3)^2 + \text{Azo}^3\text{Na}$.	4	4	8	12
II. Azo^3Na	Ne fermente pas.		»	16
	Réaction nitreuse.			
III. $(\text{AzH}^3)^2\text{So}^4$	Les deux microbes se développent comme dans le milieu I.			
IV. Sans azote	Les cultures ne se développent pas.			

Les cultures, faites dans 100 centimètres cubes de solution nutritive placés dans des fioles d'Erlemmeyer, de 500 centimètres cubes, étaient à dessein, largement aérées. Les microbes poussent d'abord au fond du liquide où ils agglutinent la mince couche de carbonate de calcium en une masse de consistance mucilagineuse; puis, vers le troisième jour, le liquide se trouble et la fermentation commence, pour devenir très active les jours suivants. Les bulles de gaz entraînent la membrane du fond à la surface où elle se reconstitue en un voile régulier quand la fermentation est finie. Lorsqu'on laisse les cultures au repos pendant plusieurs jours après l'arrêt de la fermentation, elles se ressemblent toutes, quels que soient les aliments azotés qu'on leur ait offerts à l'origine. Mais les débuts sont moins pénibles, cela se conçoit, en présence de l'ammoniaque.

La conclusion de ces observations, c'est que les bacilles dénitrifiants 1 et 2 assimilent l'azote nitrique et le transforment préalablement en azote ammoniacal.



LA DÉNITRIFICATION CHEZ LES VÉGÉTAUX SUPÉRIEURS

X

Aspect de la question.

Les végétaux supérieurs assimilent, on le sait, l'azote nitrique. L'ammoniaque et l'acide cyanhydrique représentent, dans les conditions ordinaires, les premiers termes de ce travail de digestion. Après ce que je viens d'exposer au sujet de l'assimilation des nitrates par les microbes aérobies, l'existence de termes de passage entre l'ammoniaque et l'acide nitrique se présente comme une nécessité physiologique, même chez les végétaux supérieurs. L'acide nitreux a été signalé depuis longtemps par Hoppe-Seyler; il a constaté sa formation, en plaçant des plantules ou des organes végétaux dans des solutions très diluées de nitrates; mais il ne s'était pas suffisamment mis en garde contre l'intervention possible des microbes. L'étude de la question a été reprise par Laurent (1), qui a conclu de ses recherches

(1) E. LAURENT, *Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, p. 722.

que les levures, les champignons et les végétaux à chlorophylle produisent de l'acide nitreux aux dépens de l'acide nitrique. E. Laurent a utilisé le réactif de Griess, pour la recherche de l'acide nitreux ; c'est ce qui lui a permis de généraliser ses conclusions ; le réactif de Griess est d'une sensibilité extrême, et les petites quantités d'acide nitreux qu'il peut déceler dans une solution de nitrate à 1 p. 100, où l'on introduit des champignons ou des végétaux vivants, ne résultent pas nécessairement d'une action physiologique ; l'acide nitrique est l'aliment azoté le plus répandu des végétaux supérieurs ; c'est par tonnes qu'il s'absorbe sous nos yeux et c'est par grammes qu'il faut l'offrir à une plante volumineuse comme le maïs, si on veut en assurer le développement. Si, par conséquent, l'acide nitreux se présente comme un produit normal de la digestion de l'acide nitrique, il doit se former en quantités pondérables lorsqu'on en provoque l'apparition ; le réactif de Tromsdorff peut être considéré comme très suffisant pour déceler sa présence dans les recherches sur les végétaux supérieurs, et je pense même qu'il est prudent de ne pas ranger parmi les résultats positifs ceux qui ne reposent pas sur une réaction nette, immédiate et intense.

En immergeant des plantules de pois, d'âge variable de trois à quinze jours, étiolées ou vertes, privées de microbes, dans une solution de nitrate de potassium à 1 p. 100, on observe une transformation de l'acide nitrique en acide nitreux ; la réduction devient perceptible au bout d'un temps plus ou moins long.

Si on fait la même expérience dans le vide obtenu au moyen de la pompe à mercure, il ne se forme pas d'acide nitreux, quelle que soit la durée de l'expérience.

Autre anomalie : les graines de pois placées sous l'eau nitratée, toujours à l'abri des microbes, ne réduisent pas l'acide nitrique avec formation d'acide nitreux, d'après les observations de E. Laurent ; j'ai constaté que l'acide nitreux peut apparaître au bout d'un temps très long, pour disparaître ensuite lentement ; mais la réaction reste toujours relativement faible.

La disparition des nitrites formés en présence de plantules de pois immergées a été observée par E. Laurent ; dans mes expériences, ils ont persisté pendant quatre mois ; mais j'ai noté cependant une diminution sensible de l'intensité de la réaction.

Les graines de pois immergées dans l'eau nitratée à 1 p. 100, et placées dans le vide, transforment à la longue les nitrates en nitrites ; si on réalise des essais en série en plaçant les graines dans des tubes scellés, l'apparition des nitrites se fait en quelques heures, ou en quelques jours si

on laisse rentrer l'air après un séjour plus ou moins prolongé dans le vide.

Voici donc une fonction qui présente encore, aussi bien chez les graines de pois que chez les plantules, une allure très capricieuse ; tous ces résultats sont néanmoins possibles, et si on veut bien se rappeler toutes les variations de même nature que les bacilles dénitrifiants (1) et (2) nous ont permis d'enregistrer, ils sont, *a priori*, tout à fait vraisemblables.

Il est vraisemblable aussi, chacun le devine aisément, que la transformation des nitrates en nitrites, ou dérivés gazeux de l'acide nitreux, en ammoniaque même, constitue une série d'actions physiologiques ou d'actions diastasiques parfaitement ordonnées chez les végétaux supérieurs où on n'en saisit que les deux termes extrêmes, mais susceptibles d'être dissociées de bien des façons, suivant que l'une ou l'autre, les unes ou les autres prédominent ou faiblissent. Les bacilles dénitrifiants aérobies 1 et 2 ne se prêtent pas à l'isolement des diastases qui président à la décomposition de l'acide nitrique ; les procédés employés couramment dans ce genre de préparations ne donnent aucun résultat ; les bacilles 1 et 2, cultivés en grande surface, sur gélose nitratée, produisent des cultures abondantes ; si on racle ces cultures pour les introduire dans une solution de nitrate à 4 p. 100, additionnée ou non de 2 p. 100 de glucose, de façon à obtenir une émulsion très riche de corps de microbes vivants et jeunes, on n'observe pas, pendant les premières heures, de dégagement gazeux ; mais il se déclare néanmoins au bout de six à huit heures, à la température ordinaire ; cette particularité rappelle bien la manière dont se comporte la levure traitée de la même façon ; les diastases qui détruisent ou disloquent l'acide nitrique et nitreux ne s'accumulent pas dans les microbes cultivés sur milieux solides ; elles résistent mieux en milieux faiblement aérés et c'est en s'adressant aux cultures effectuées dans ces conditions qu'on pouvait escompter la possibilité de préparer des diastases actives ; mais ces prévisions ne se réalisent pas non plus, sans doute parce que la dénitrification exige un concours compliqué de diastases. Il est en effet facile de montrer que la dislocation

de l'acide nitrique exige au moins deux diastases distinctes : des plantules de pois de 3 à 4 centimètres de tige sont placées dans le vide, fait à la pompe à mercure, et immergées dans des solutions de nitrate de potassium à 1 p. 100 ou de nitrite de potassium à 1 p. 1000. Les plantules placées dans la solution nitrique ne décomposent pas l'acide nitrique du nitrate avec formation de produits intermédiaires. Celles qui sont immergées dans la solution nitreuse produisent de l'*azote*, du *protoxyde d'azote*, et de l'*oxygène libre* aux dépens de l'acide nitreux.

Voici donc un résultat qui prouve bien l'intervention d'au moins deux diastases distinctes dans la dislocation de l'acide nitrique.

Leur recherche dans le suc de plantules de pois est tout indiquée ; mais comme il est nécessaire d'employer des suc filtrés sur bougie, de façon à éviter les perturbations causées par la présence de microbes, on obtient un liquide qui est privé de la plus grande partie des substances actives. Le liquide filtré, additionné ou non de nitrate, donne instantanément la réaction de l'acide nitreux, lorsqu'il est exposé à l'air ; on est donc, en réalité, en présence d'un corps qui présente la réaction de l'acide nitreux, mais qui ne dérive pas de l'acide nitrique.

Placé dans le vide, le même liquide additionné de nitrate ne donne plus la réaction de l'acide nitreux.

Les phénomènes de dénitrification provoquée se présentent donc sous un aspect un peu complexe ; il convient maintenant de les examiner méthodiquement.

Les résultats ne deviennent intéressants que lorsqu'on place les graines et les plantules dans le vide ; il est donc nécessaire de faire, dans les fioles où l'on introduit les graines et les plantules, un vide aussi complet que possible au moyen de la pompe à mercure, tout en assurant l'étanchéité rigoureuse des joints et des fermetures en les recouvrant de mercure.

XI

Dénitrification par les graines et les plantules
immergées en récipients ouverts.

Les plantules de pois âgées de cinq à quinze jours, cultivées à l'abri des microbes, à la lumière ou à l'obscurité, immergées dans une solution de nitrate de sodium à 1 p. 100, produisent de l'acide nitreux au bout d'un temps variable.

Le temps qui s'écoule entre le moment de l'immersion et l'apparition de l'acide nitreux dépend du volume de la solution rapporté à une plantule. Plus ce volume est grand, plus lentement se fait la mise en liberté d'acide nitreux.

On peut aussi faire germer des graines de pois par le procédé ordinaire, à raison d'une graine par tube à essai, sur 10 centimètres cubes d'eau distillée. Quand elles sont suffisamment développées, on les pousse au fond du liquide qu'on additionne d'une solution de nitrate préalablement stérilisée, de façon à obtenir une concentration de 1 p. 100. Dans des tubes ainsi préparés, la réaction de l'acide nitreux devient perceptible au bout de huit jours d'immersion; les plantules immergées dans l'eau distillée ne donnent pas la réaction de l'acide nitreux.

J'ai employé en même temps des fioles d'Erlemmeyer dans lesquelles le support des graines était formé de perles de verres; avec ce dispositif, on peut faire germer de 25 à 50 graines de pois sur environ 50 centimètres cubes d'eau distillée. Immergées ensuite dans 100 centimètres cubes d'eau nitratée à 1 p. 100, ces plantules produisent de l'acide nitreux en moins de quarante-huit heures; la réaction devient extrêmement intense avec le temps, puis décroît peu à peu; elle a persisté plus de trois mois dans les tubes; dans les fioles d'Erlemmeyer, elle a duré également plus de deux mois et demi; les plantules immergées dans l'eau distillée ne donnent pas la réaction de l'acide nitreux.

Les graines de pois immergées dans les mêmes conditions ne réduisent pas les nitrates; cependant la réaction de l'acide nitreux apparaît au bout d'un temps très long (trois à quatre semaines), lorsqu'on introduit 20 à 30 graines dans un tube à essai avec un volume de solution de nitrate juste suffisante pour les recouvrir. Si on utilise le même dispositif, et qu'on scelle les tubes à la lampe après y avoir fait le vide, on constate que l'acide nitreux se forme au bout de quelques jours, lorsqu'on casse la pointe des tubes scellés pour laisser rentrer l'air.

Après un séjour de neuf jours dans le vide, et sept jours de contact avec l'air, la réaction nitreuse est très intense. Les tubes ouverts au bout de dix-sept jours ne donnent pas la réaction de l'acide nitreux, au moment où on laisse rentrer l'air; le liquide réduit le bleu de méthylène, l'iode d'amidon, etc.; l'acide nitreux se forme après quelques jours de contact avec l'air.

Si on analyse le liquide nitraté à 1 p. 100 après un séjour de soixante-deux jours dans le vide afin de déterminer la quantité d'acide nitrique

décomposé, on constate que celui-ci demeure intact; la fermentation alcoolique n'est pas sensiblement gênée par la présence du nitrate de potassium.

En 62 jours, 407 graines immergées dans 100 cent. cubes de solution de nitrate à 1 p. 100 produisent à 20 degrés environ :

Alcool	1 gr. 12894
CO ² en poids	1 gr. 069
$\frac{\text{Alcool}}{\text{CO}^2} = 1,036$.	Chiffre théorique = 1,045.

Les graines de maïs ou les plantules de maïs ne décomposent pas non plus les nitrates à l'air ni dans le vide, si on prend comme moyen de contrôle la formation d'acide nitreux. J'ai constaté une seule fois la réaction nitreuse avec les graines du maïs immergées, après douze jours d'immersion; la réaction est restée faible; l'acide nitreux a disparu peu à peu; après trente-neuf jours la réaction redevient négative.

Tous ces faits s'expliquent si on admet, ainsi que je l'ai montré, que la réduction de l'acide nitrique et la décomposition de l'acide nitreux constituent deux phénomènes physiologiques accomplis par deux diastases distinctes.

Si les graines ou les plantules sont placées dans des conditions de vie normale, la décomposition des nitrates s'effectue sans formation apparente de produits de passage, parce que les diverses phases du phénomène se déroulent dans des conditions d'équilibre parfait. Lorsqu'on les prive d'air, la décomposition s'arrête en apparence encore; en réalité elle se poursuit lentement; mais la décomposition de l'acide nitreux marche de pair avec la réduction de l'acide nitrique, et, des petites quantités de nitrate détruites par les plantules à l'abri de l'oxygène, il ne reste rien qui permette de saisir le procédé suivant lequel se fait la dénitrification.

Mais la privation presque totale d'oxygène, telle qu'on la réalise par l'immersion des plantules, détruit l'équilibre entre les deux phénomènes. On peut même avancer ou retarder la rupture en réduisant ou en augmentant l'aération par la diminution ou l'accroissement du volume de la solution mise à la disposition de chaque plantule.

C'est donc un phénomène d'assimilation complète ou, tout au moins, une transformation de l'acide nitrique en ammoniac qui se réalise pendant les premiers jours; puis, lorsque l'acide nitreux apparaît, c'est la réduction de l'acide nitrique

qui progresse plus vite que la décomposition de l'acide nitreux; l'équilibre des deux actions se rompt donc en faveur de la réduction de l'acide nitrique; si on poursuit l'expérience, on voit peu à peu la deuxième phase du phénomène reprendre le pas sur la première, si bien que l'acide nitreux finit par disparaître à peu près complètement. Jusqu'ici, les faits relatifs à la dénitrification par les plantules de pois n'échappent pas à une interprétation rationnelle. On peut cependant se demander pourquoi les graines sont si peu actives : il suffit de rappeler, à ce sujet, que l'assimilation des nitrates par les végétaux est surtout localisée dans les feuilles, les pousses et les bourgeons pour en trouver la raison; dans les graines en voie de germination, on constate aussi que l'acide nitrique est absorbé surtout dans les régions terminales de la tigelle; les cotylédons n'interviennent que peu ou pas dans le phénomène; c'est pour cela que les graines se montrent si peu actives et qu'il est très difficile de mettre en évidence l'acide nitreux qu'elles forment aux dépens des nitrates.

XII

Réduction de l'acide nitrique et de l'acide nitreux
par les plantules de pois et de maïs placées dans le vide.

La décomposition de l'acide nitreux par les plantules immergées est probablement accompagnée d'une déperdition d'azote gazeux ou de composés oxygénés dérivés de l'acide nitreux, comme chez les microbes aérobies; mais il n'est pas facile de mettre le fait en évidence en présence de l'air; le phénomène ne porte en effet que sur des quantités très faibles d'acide nitreux; on ne peut donc en donner une démonstration précise qu'à la condition d'utiliser des solutions nitreuses et de placer les plantules dans le vide. Le tableau X renferme les principales données fournies par les expériences réalisées dans ces conditions. Pour établir la décomposition de l'acide nitrique dans le vide, j'ai placé en même temps des lots de plantules identiques dans des solutions de nitrates à 1 p. 100 et dans de l'eau distillée. Le volume des solutions employées, le même partout, était de 100 centimètres cubes.

TABLEAU X.

Première série d'expériences. Pois.

Age des plantules développées à 20 degrés 5 jours.

Nombre de plantules dans chaque lot 14 —

Nature des solutions	NITRITE de sodium 1 p. 1000	NITRATE de potassium 1 p. 100	EAU distillée.
	—	—	—
Durée de l'expérience, en jours.	44 »	43 »	42 »
Volume de gaz recueilli, en cent. cubes.	26 »	145 »	135,5
CO ² , en cent. cubes.	20,3	145 »	135,5
Poids du CO ² , en milligr.	39,8	284,2	265,5
Alcool formé, en milligr.	31,25	318 »	287,3
Résidu gazeux non absorbé par KOH, en c. c.	5,7	Traces.	Traces.
Composition des résidus, en cent. cubes :			
O	2 »	»	»
N ² O	1,1	»	»
N	2,6	»	»

Deuxième série.

Age des plantules développées à 22 degrés 9 jours.

Nombre de plantules dans chaque lot 20 —

Nature des solutions	NITRITE de sodium 1 p. 1000	NITRATE de potassium 1 p. 100	EAU distillée.
	—	—	—
Durée de l'expérience en jours.	36 »	33 »	28 »
Volume de gaz recueillis, en cent. cubes.	46,47	188,03	187,94
CO ² , en cent. cubes.	35,71	188,03	187,94
CO ² , poids en milligr.	70,00	368,57	368,36
Alcool formé en milligr.	65,62	366,8	410,4
Nitrite ou nitrate détruits en milligr.	67,4	40,6	»
Résidu gazeux non absorbé par KOH, en c. c.	10,76	Traces.	Traces.
Composition du résidu gazeux en cent. cubes :			
O	2,28	»	»
N ² O	1,20	»	»
N	7,28	»	»

Les résultats fournis par les plantules de maïs traitées de la même façon sont identiques aux précédents. Ils sont résumés dans le tableau suivant.

TABLEAU XI.

Première série. MAÏS.

Nombre de plantules dans chaque lot. 10
 Age des plantules développées à 30 degrés. . . . 7 jours.

Nature des solutions	NITRITE de sodium 1 p. 1000	NITRATE de potassium 1 p. 100	EAU distillée
Durée de l'expérience en jours	24 »	35 »	59 »
Volume de gaz recueilli, en cent. cubes	64,38	433,4	330,3
CO ² en cent. cubes.	55,40	433,1	330,3
CO ² en milligr.	103,58	899 »	647,5
Alcool trouvé en milligr.	101 »	895 »	712,25
Résideux gazeux non absorbé par KOH en c. c. .	8,98	Traces.	Traces.
Composition du résidu en cent. cubes :			
O	3,33	»	»
N ² O + N.	5,65	»	»
Nitrite ou nitrate détruits en milligr.	67,4	40,6	»

Deuxième série.

Nombre de plantules dans chaque lot 10
 Age des plantules développées à 30 degrés. . . . 6 jours.

Nature des solutions	NITRITE de sodium p. 1000	NITRATE de potassium p. 100	EAU distillée
Durée de l'expérience en jours.	20 »	8 »	9 »
Volume gazeux recueilli, en cent. cubes	18,91	225,7	249,3
CO ² en cent. cubes.	11,10	225,7	249,3
CO ² en milligr.	21,75	442,37	481,3
Alcool trouvé en milligr.	»	432,2	499,32
Résidu gazeux non absorbé par KOH en c. c. .	7,81	Traces.	Traces.
Composition du résidu en cent. cubes :			
O	3,4	»	»
N ² O.	2,61	»	»
N.	4,80	»	»
Nitrate ou nitrite détruit en milligr.	50 »	31,8	»

Les mêmes expériences, répétées sur les graines de pois et de maïs en présence de nitrite ou de nitrate, ne donnent pas de produits de décomposition appréciables de l'acide nitreux ou de l'acide nitrique.

Deux faits importants ressortent de l'examen de ces tableaux :

1° La destruction des nitrates par les plantules à l'abri de

l'air sans formation de substances dérivées de l'acide nitrique ;

2° La décomposition de l'acide nitreux avec mise en liberté d'oxygène, de protoxyde d'azote et d'azote.

La quantité de nitrate détruit est faible ; elle se traduit par un appauvrissement de la solution et par un dégagement sensible de gaz carbonique, en excès sur la quantité correspondant à l'alcool trouvé. Cet excès est plus élevé que les chiffres accusés par l'expérience, car les plantules de pois et de maïs renferment en moyenne 2 milligrammes à 2 milligr. 8 d'alcool par pied, au moment où on les met en expérience ; cet alcool reste dans la plante pendant que le gaz carbonique correspondant est enlevé par la pompe à mercure ; c'est pour cette raison aussi que l'alcool trouvé dans les solutions nitreuses ne provient pas de la fermentation alcoolique accomplie en présence du nitrite de sodium ; il résulte, en effet, de la comparaison des chiffres de gaz carbonique obtenu dans les différentes conditions que le nitrite de sodium détruit la zymase, tandis que le nitrate de potassium est sans action sensible sur elle.

L'influence des nitrates sur le développement des plantules reste donc sans effet sensible à l'abri de l'air ; j'ai remarqué cependant que, pendant les premiers jours de privation d'oxygène, les plantules de maïs obéissent aux sollicitations géotropiques en présence du nitrate, bien plus que dans l'eau distillée ; elles conservent, d'ailleurs, les unes et les autres, la propriété de se développer pendant huit à dix jours lorsqu'on les remet à l'air ; le nitrite de sodium détruit rapidement leur faculté végétative.

L'absence de nitrite dans les solutions de nitrate s'explique par le fait que la réduction de l'acide nitrique s'effectue plus lentement que la décomposition de l'acide nitreux ; cette déduction ne résulte pas de l'expérience faite en présence de nitrate, mais bien de la propriété que possèdent les plantules de décomposer les nitrites. La solution de nitrate, enrichie des matières réductrices provenant des plantules, reste d'ailleurs capable de réduire le bleu de méthylène, l'iodure d'amidon, etc., à la fin de l'expérience, ce qui n'a pas lieu en présence de nitrite.

Considérons maintenant le fait le plus imprévu parmi ceux qui sont consignés dans le tableau X, la décomposition de l'acide nitreux avec dégagement d'oxygène.

Au premier abord, ce fait semble paradoxal si on tient compte des conditions d'anaérobiose auxquelles les plantes sont soumises. Mais si on veut bien considérer les modes de dislocation des substances fermentescibles par voie diastasique, on est bien obligé d'admettre que l'oxygène émigre avec autant de facilité que l'hydrogène.

L'oxygène est donc virtuellement un produit de fermentation comme l'hydrogène ; mais il se combine très facilement soit avec une partie de la molécule désintégrée, soit avec d'autres substances oxydables toujours présentes dans la cellule vivante.

Mais on conçoit qu'il puisse se dégager comme l'hydrogène, si la substance fermentescible peut céder, en se disloquant, des quantités d'oxygène plus que suffisantes pour oxyder tous les corps susceptibles de l'absorber.

C'est ainsi que s'explique très simplement le dégagement d'oxygène ; et comme l'acide nitreux détruit la plus grande partie des diastases de la cellule, à en juger par son action sur la zymase, tout en

respectant naturellement celles qui le décomposent, du moins à la concentration de 1 p. 1000, le dédoublement de l'acide nitreux se poursuit assez longtemps pour fournir des quantités dosables d'oxygène.

Le dégagement d'oxygène peut être mis en évidence par des procédés très simples. Parmi les réactifs capables de déceler sa présence dans un espace clos, on n'a que l'embaras du choix ; j'ai accordé la préférence au bleu de méthylène. Pour en faciliter l'emploi, on l'introduit dans une gélose préparée avec de l'eau distillée. La gélose dissoute à 100 degrés est addi-

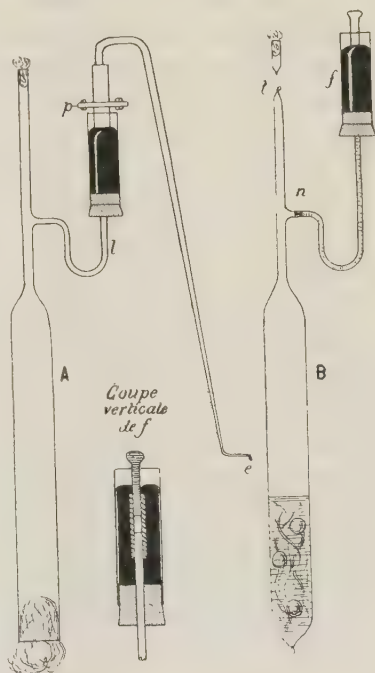


FIG. 1.

tionnée de petites quantités de glucose, 1 dix millième environ, alcalinisée très légèrement avec de la soude et enfin colorée en bleu foncé par une solution de bleu de méthylène dans l'eau distillée. La gélose se décolore en une minute ou deux à 100 degrés, elle est introduite au moment voulu dans la tubulure latérale *l* jusqu'au niveau *n* [B, fig. 1].

Les plantules sont placées dans le petit appareil [A, fig. 1] dont la fonction et le maniement s'expliquent d'eux-mêmes. On fait le vide en balayant plusieurs fois à l'acide carbonique; quand ce résultat est obtenu, on introduit la gélose par l'effilure dont on casse l'extrémité *e*, fermée jusque-là, en l'appliquant contre le fond du tube de gélose maintenu au bain-marie à 100 degrés. La pince *p* permet de fixer le niveau de la gélose au point voulu. Ceci étant fait, on ferme la tubulure verticale à la flamme et on obtient ainsi l'appareil B absolument hermétique.

Dans ce tube, la solution de nitrate à 1 p. 100 reste incolore dans l'obscurité; en présence de plantules de pois ou de maïs la leucobase du bleu de méthylène ne présente pas trace de bleuissement.

Dans les solutions de nitrite de sodium à 1 p. 1000, les plantes produisent une coloration uniforme jaune-rougeâtre en présence du pois, acajou clair avec le maïs. Le bleu apparaît à la surface de la gélose malgré ses propriétés légèrement réductrices; il y persiste pendant toute la durée de l'expérience, c'est-à-dire plusieurs semaines à 30 degrés.

XIII

Influence de la température sur la destruction des substances
qui interviennent dans la décomposition de l'acide nitreux.

J'ai employé jusqu'ici l'expression diastase pour désigner les substances capables de produire la décomposition de l'acide nitrique et de l'acide nitreux, bien que je n'aie pas cherché à les caractériser comme telles. Il importe peu d'ailleurs que leurs propriétés cadrent avec celles des substances qui sont classées sous cette dénomination; la résistance à la chaleur est plus ou moins grande chez les diastases classiques; le peu de résistance

qu'on leur reconnaît est plutôt une conséquence des relations étroites qu'elles présentent avec les substances albuminoïdes qui sont, on le sait aussi, plus ou moins difficiles à coaguler par le chauffage suivant leur nature, et surtout suivant leur degré de concentration.

Soumises à une température de 100 degrés pendant quinze minutes, les plantules de pois et de maïs conservent la propriété de décomposer l'acide nitreux avec dégagement d'oxygène. En prenant les précautions les plus minutieuses pour me mettre à l'abri des causes d'erreur et en faisant le vide à la pompe à mercure j'ai obtenu, avec les plantules de pois âgées de huit jours, les résultats suivants :

TABLEAU XII.

Nombre de plantules, dans chaque lot	12
Durée de l'expérience	21 jours.
Volume de la solution nitreuse employée, le nitrite de sodium étant introduit après chauffage	100 cent. cubes.
Concentration de la solution en nitrite	1 p. 1000.

	PLANTULES chauffées.	PLANTULES non chauffées.
Volume de gaz recueilli, réduit à 0 degré sous la pression 760, en cent. cubes.	4,3	32,6
Composition centésimale :		
CO ²	14,15	70,58
O	16,64	6 »
N ² O	10 »	10 »
N	59,21	13,42
Nitrite détruit, en milligr.	12,32	50,4

On voit donc qu'un chauffage très sévère n'abolit pas complètement la propriété que possèdent les plantules de pois de décomposer l'acide nitreux. Les plantules de maïs se comportent exactement de la même façon.

XIV

Assimilation de l'acide nitreux par les végétaux supérieurs.

Il me reste maintenant à démontrer que les végétaux supérieurs assimilent l'azote de l'acide nitreux et se développent

bien lorsque celui-ci constitue le seul aliment azoté dont ils disposent.

Le tableau XIII montre que la germination des graines de pois et de maïs est possible en présence de doses assez élevées de nitrite. J'ai réuni dans ce même tableau les observations relatives à la marche de la germination en présence de solution de nitrate de sodium, afin de permettre d'établir une comparaison entre l'influence des nitrates et celle des nitrites. Tous les essais ont été réalisés à l'abri des microbes; chaque lot comprenait dix graines.

TABLEAU XIII.

Pois.						
Durée de la germination, à 20 degrés			3 jours.	5 j.	8 j.	
Nitrite de sodium :	1 p. 1000	Graines germées.	3 gr.	6 gr.	6 gr.	
—	2 —	—	3 —	6 —	6 —	
—	5 —	—	0 —	0 —	0 —	
Nitrate de sodium :	5 p. 1000	Graines germées.	10 gr.	10 gr.	10 gr.	
—	10 —	—	5 —	6 —	8 —	
—	20 —	—	0 —	0 —	0 —	
—	40 —	—	0 —	0 —	0 —	

Maïs.						
Durée de la germination, à 30 degrés			3 j.	4 j.	5 j.	9 j.
Nitrite de sodium :	1 p. 1000	Graines germées.	10 g.	10 g.	10 g.	10 g.
—	2 —	—	3 —	7 —	8 —	10 —
—	5 —	—	0 —	4 —	7 —	7 —
Nitrate de sodium :	5 p. 1000	Graines germées.	9 g.	9 g.	10 g.	10 g.
—	10 —	—	5 —	7 —	9 —	10 —
—	20 —	—	0 —	0 —	0 —	5 —
—	40 —	—	0 —	0 —	0 —	0 —

Les graines sont considérées comme germées lorsque la radicelle est bien sortie; ce caractère n'indique pourtant que le début de la végétation; mais comme elle se poursuit plus ou moins vite, suivant la concentration des solutions, quand la radicelle se montre, j'ai choisi ce caractère comme terme de comparaison.

Comme on peut s'en rendre compte, le maïs supporte mieux le nitrite de sodium que le pois; toutes les plantules qui se sont développées ont donné à la longue des végétaux normaux; cependant, du côté des racines, on observe les modifications

qui dénotent une concentration trop élevée des solutions ou la présence d'un antiseptique dans l'eau de germination : la racine principale cesse de s'allonger dès qu'elle plonge dans la solution, ou bien elle se contourne sur elle-même et revient vers le tampon de coton qui porte la graine, pour sortir du liquide lorsque son action nocive n'est pas trop prononcée. Dans les solutions les plus concentrées, le développement de la racine s'arrête net ; de nouvelles ramifications partent soit de la base de l'axe, soit de la tigelle, et s'arrêtent à leur tour dès qu'elles plongent dans la solution. Tous ces phénomènes peuvent se résumer dans l'énoncé suivant d'une loi constante : la plante règle sa surface d'absorption racinaire en raison inverse de la concentration des solutions minérales dans lesquelles plongent ses racines.

Les tiges de maïs ne présentent rien d'anormal ; celles des pois ont un aspect très curieux : l'axe principal ne s'allonge pas dans les solutions à 2 p. 1000 de nitrite de sodium ; il atteint à peine 3 centimètres de longueur ; de nombreuses ramifications partent de sa base ; celles-ci donnent de nouveau naissance à d'autres semblables et ainsi de suite sans qu'aucune ne dépasse sensiblement la première développée, si bien que l'ensemble rappelle une inflorescence de chou-fleur qui commence à monter.

Il ressort de ces essais que la germination des graines de pois et de maïs est possible en présence de 1 p. 1000 de nitrite de potassium, avec une résistance plus marquée à l'action antiseptique du nitrite chez le maïs.

Comme celui-ci se prête très bien à des cultures en solution minérale, j'ai réalisé ces cultures dans les solutions suivantes, où le seul aliment azoté est le nitrite de sodium à la concentration de 0,5 p. 1000.

Eau distillée.	1.000 »	Chlorure de manganèse. .	0,05
Nitrite de sodium.	0,5	Chlorure de zinc	Traces.
Phosphate bipotassique. .	1 »	Silicate de potassium. . .	
Sulfate de magnésium . .	0,2	Carbonate de calcium. . .	2 »
Sulfate ferreux	0,1		

Les plantules dont la germination s'est faite sur l'eau distillée sont placées dans des flacons de 3 litres non munis de

tubulaires latérales, car il ne s'agit pas de pousser le développement jusqu'à la formation des graines, mais de montrer que l'azote de l'acide nitreux peut subvenir à la nutrition azotée de la plante.

Les débuts de la végétation sont pénibles, et les plantes au nombre de trois présentent un retard considérable sur les témoins.



FIG. 2.

La première photographie permet de juger l'état de la végétation pendant les premières semaines de l'expérience, par comparaison avec une plante témoin développée dans la solution suivante :

Eau	1.000 »	Sulfate ferreux	0,1
Nitrate de sodium	1 »	Chlorure de manganèse	0,05
Sulfate d'ammonium	0,25	Chlorure de zinc	} Traces.
Phosphate bipotassique	1 »	Silicate de potassium	
Sulfate de magnésium	0,2	Carbonate de calcium	2 »

La chlorose des deux plantes les plus avancées est très prononcée; le n° 3 plus chétif ne présente pas de chlorose au début,

mais elle apparaît dès que la végétation prend un essor plus vigoureux. Cette chlorose disparaît peu à peu et assez brusquement quand le temps, très peu propice au début, se remet au beau pendant la première quinzaine d'août 1909.

Les racines se développent mal également tant que la solution ne s'affaiblit pas par les progrès de l'assimilation; elles n'atteignent pas le dépôt calcaire du fond où se réunis-



FIG. 3.

sent les bases terreuses et alcalino-terreuses précipitées sous l'influence de la stérilisation; cette particularité joue un rôle très important dans la marche de la végétation et dans la chlorose qui se manifeste à côté de l'influence spécifique du nitrite de sodium.

Quand les extrémités radiculaires parviennent jusqu'au dépôt insoluble, les plantes prennent de la vigueur; leur teinte devient normale, les nouvelles racines qui se forment sont également normales et rien ne dénote plus la présence du nitrite de sodium dans l'aspect de la plante; la couleur de la solution nutritive seule reste jaune jusqu'à la fin de l'expé-

rience, résultat dû à l'oxydation des régions superficielles des racines et des substances organiques qu'elles laissent diffuser dans le liquide nutritif.

La deuxième photographie a été prise au moment où les plantes ont leur aspect normal; la troisième photographie montre le développement des plantes au moment où l'on a mis fin aux expériences. Le n° 3 a été arrêté bien plus tard



FIG. 4.

que les n°s 1 et 2, quand toute la solution minérale a été complètement absorbée.

Le tableau XIV donne les poids respectifs des plantes :

TABLEAU XIV.

	Durée des cultures.	Poids sec des plantes.
N° 1	65 jours.	12.538 grammes.
N° 2	65 —	12.966 —
N° 3	83 —	16.372 —

On voit donc que les plantes de maïs alimentées avec de

l'acide nitreux, à l'exclusion de tout autre aliment azoté, se sont bien développées, en absorbant entièrement tout l'acide nitreux de la solution nutritive.

L'acide nitreux, terme de passage de l'assimilation des nitrates, ou, si l'on préfère, produit de fermentation de l'acide nitrique, est un aliment des végétaux supérieurs.

Le problème posé au début de ce travail est donc bien démontré dans toute sa généralité.

DE L'ANAPHYLAXIE ET DE L'ANTIANAPHYLAXIE

VIS-A-VIS DU 'BLANC D'ŒUF

(ONZIÈME MÉMOIRE)

par A. BESREDKA et J. BRONFENBRENNER (de New-York).

(Laboratoire du professeur Metchnikoff.)

Toute étude d'anaphylaxie et d'antianaphylaxie peut se ramener à l'étude de trois fonctions : sensibilisante, toxique et vaccinnante (1).

I

FONCTION SENSIBILISANTE.

Pour étudier l'anaphylaxie vis-à-vis du blanc d'œuf, nous nous adressons à des cobayes jeunes, pesant de 200 à 350 grammes. Suivant les besoins de l'expérience, nous sensibilisons d'une manière active ou passive.

Pour réaliser une sensibilisation *active*, nous injectons, au début, sous la peau, 0,5 centimètres cubes de blanc d'œuf dilué dans son volume d'eau physiologique : l'état anaphylactique apparaît dans ce cas à partir du 16^e et, mieux encore, à partir du 20^e jour. Plus tard, nous avons vu qu'on arrivait à anaphylactiser des cobayes avec des doses beaucoup plus faibles : avec 1/100 centimètre cube de blanc d'œuf, on réussit à rendre les cobayes hypersensibles et cela même au bout d'un délai plus court, au bout de douze jours, en moyenne.

La propriété sensibilisigène du blanc d'œuf résiste-t-elle à des températures élevées, comme le fait a été constaté par un de nous pour le sérum et le lait ? En d'autres termes, le blanc d'œuf chauffé à 100 degrés conserve-t-il la propriété de sensibiliser les cobayes ?

(1) Nous laissons de côté la partie chimique du problème qui a été étudiée par Vaughan et Wheeler, *Journal of infect. diseases.*, t. IV, p. 476; par Wells, *Ibid.*, t. V, p. 449; t. VI, p. 506, et par Armit, *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, t. VI, p. 703.

27 octobre. Trois cobayes reçoivent sous la peau, chacun, 2 cent. cubes de solution de blanc d'œuf dilué au quart avec de l'eau distillée et chauffée à 100 degrés pendant 10 minutes.

12 novembre. Un de ces cobayes est éprouvé dans la veine jugulaire avec 1/100 cent. cube de blanc d'œuf normal, non chauffé; aussitôt après, l'animal est pris d'accès de toux et de dyspnée, mais se rétablit vite.

21 novembre. Les deux autres cobayes sont éprouvés également par la voie veineuse : un avec 1/100 cent. cube, l'autre avec 1/10 cent. cube de blanc d'œuf normal; le premier cobaye présente des troubles anaphylactiques d'intensité moyenne (toux, dyspnée, soubresauts); le deuxième a des accidents graves aboutissant à la mort au bout de deux minutes.

Deux autres cobayes, témoins, avaient été sensibilisés à la même date (27 octobre) avec une solution correspondante de blanc d'œuf *non* chauffé; éprouvés le 21 novembre avec 1/100 cent. cube de blanc d'œuf, ils succombèrent tous les deux au milieu des accidents classiques, en moins de deux minutes.

Cette expérience montre que tout en étant atténuée par le chauffage à 100 degrés, la fonction sensibilisante du blanc d'œuf est thermostable; elle peut être nettement constatée lorsque l'épreuve est faite avec du blanc d'œuf non chauffé. Nous allons revenir encore sur cette thermostabilité dans la suite, quand il sera question des épreuves faites avec des solutions de blanc d'œuf chauffées.

*
* *

Pour réaliser une sensibilisation *passive*, nous nous adressons au sérum de lapins immunisés contre le blanc d'œuf.

Nos lapins, fournisseurs de sérum anaphylactisant, ont été traités de la façon suivante : le 10 octobre, ils ont reçu dans la cavité péritonéale 5 cent. cubes de solution de blanc d'œuf à 50 p. 100; le 11 octobre, 10 cent. cubes, et le 12 octobre, 20 cent. cubes de cette solution dans le péritoine; le 15 octobre, 5 cent. cubes, et, le 16 octobre, 10 cent. cubes de cette solution dans les veines; pour éviter des thromboses, les injections ultérieures ont été faites dans le péritoine : 17 octobre, 20 cent. cubes; 28 octobre, 10 cent. cubes; 3 novembre, 10 cent. cubes de solution de blanc d'œuf à 50 p. 100. Le 11 novembre, le matin, on saigne un des lapins ainsi préparés, et dans l'après-midi on injecte avec son sérum quatre cobayes, dans le péritoine, en raison de 1,5 cent. cube de sérum par cobaye; les cobayes pèsent de 210 à 230 grammes.

12 novembre. On éprouve les quatre cobayes d'hier par la veine jugulaire : deux cobayes sont injectés avec 1/100 cent. cube de blanc d'œuf et deux autres avec 1/500 cent. cube. Dans les deux minutes qui suivent l'injection, tous les cobayes sont pris d'accidents classiques d'anaphylaxie, et ils succombent en une à trois minutes.

Il résulte de cette expérience que l'on peut créer chez des

cobayes neufs, en l'espace de vingt-quatre heures, un état anaphylactique des plus prononcés, en les sensibilisant passivement avec du sérum de lapins préparés. Cette anaphylaxie passive ne le cède en rien, en intensité, à l'anaphylaxie active : souvent même elle lui est supérieure.

Seulement, cette anaphylaxie passive, si rapide qu'elle soit, n'en exige pas moins un certain délai pour s'établir.

Les expériences montrent que les cobayes ont besoin d'être imprégnés de sérum pendant quelque temps avant de passer à l'état anaphylactique ; ainsi, si l'on injecte en même temps du sérum anaphylactisant et du blanc d'œuf, on n'observe jamais de choc anaphylactique.

2 cent. cubes de sérum anaphylactisant, provenant d'un lapin préparé, sont mélangés avec 1/100 cent. cube de blanc d'œuf, et le mélange est injecté à deux cobayes dans la veine jugulaire. Un des cobayes présente, aussitôt après l'injection, une forte dyspnée, du malaise, mais se remet assez vite ; l'autre cobaye n'a qu'une légère gêne respiratoire ; mais ni l'un ni l'autre ne manifestent aucun trouble anaphylactique.

Dans une autre expérience, un cobaye de 200 grammes a reçu dans la veine jugulaire un mélange de 1,5 cent. cube de sérum anaphylactisant et de 1 cent. cube de solution de blanc d'œuf au 1/10. Pas de réaction.

Par analogie avec ce qui a été observé pour les sérums (Doerr et Russ, Friedberger), on a pu se demander si le précipité que l'on obtient après mélange de blanc d'œuf et de sérum spécifique ne serait pas toxique en injection intraveineuse.

2 cent. cubes de sérum de lapin préparé, très sensibilisant, sont mélangés avec 4 cent. cubes de blanc d'œuf ; le mélange est laissé en contact pendant toute une nuit. Le lendemain, il s'est formé un précipité volumineux ; on le sépare de la partie liquide par centrifugation, puis, après l'avoir délayé dans 1 cent. cube d'eau physiologique, on injecte l'émulsion, à parties égales, dans la veine jugulaire de deux cobayes neufs. Aucun d'eux ne présente le moindre trouble toxique.

Dans une autre expérience, un cobaye de 200 grammes reçoit dans la veine jugulaire le précipité obtenu après contact de 1,5 cent. cube de sérum de lapin préparé et de 1 cent. cube de solution de blanc d'œuf en 1/10. Pas de réaction.

Il s'ensuit donc que ni le mélange de précipitogène avec de la précipitine, ni le précipité seul ne sont capables de déterminer des troubles anaphylactiques, tandis que ces derniers éclatent avec une violence extrême lorsque la précipitine est injectée d'abord et le précipitogène quelque temps après.

Est-ce réellement le précipitogène qui préside à la sensibilisation de l'animal, nous ne saurions l'affirmer; pour ne rien préjuger de la nature de la substance qui sensibilise, nous préférons ne pas la spécifier.

*
* * *

Un animal sensibilisé conserve-t-il pendant longtemps son état particulier?

Pour ce qui concerne les cobayes sensibilisés, nos expériences sont encore trop récentes pour comporter une réponse précise; ce que nous pouvons dire pour le moment, c'est que les cobayes ayant reçu la première injection de blanc d'œuf, il y a huit mois, sont encore parfaitement sensibles.

Par contre, nous pouvons être plus précis pour ce qui concerne la durée de l'anaphylaxie passive.

23 novembre. Trois cobayes reçoivent dans le péritoine du sérum de lapin préparé, en raison de 1,5 cent. cube par animal.

24 novembre. Un de ces cobayes, éprouvé avec 1/100 cent. cube de blanc d'œuf dans la veine, succombe en quelques minutes, après avoir présenté des troubles classiques d'anaphylaxie.

28 novembre. Le deuxième cobaye est éprouvé, cinq jours après, dans les mêmes conditions; une minute après, il a des phénomènes qui sont suivis rapidement de mort.

13 décembre. Le troisième cobaye, éprouvé avec 1/100 cent. cube de blanc d'œuf, 20 jours après, ne présente pas le moindre phénomène.

Cette expérience montre que l'anaphylaxie passive peut être constatée cinq jours après l'injection sensibilisante, mais qu'elle n'existe plus au bout de vingt jours.

En d'autres termes, la durée de l'anaphylaxie passive est celle de l'immunité passive : c'est celle de la présence de sérum étranger dans l'organisme animal.

II

FONCTION TOXIQUE.

Pour mettre en évidence la toxicité du blanc d'œuf, nous pouvons nous adresser indifféremment à des cobayes sensibilisés activement ou passivement. Deux voies s'offrent à nous

pour le faire : la voie intraveineuse et la voie intracérébrale. Dans un cas comme dans l'autre, il suffit de pratiquer l'injection d'épreuve avec une dose minime de blanc d'œuf, pour provoquer aussitôt le syndrome anaphylactique, en tout semblable à celui de l'anaphylaxie lactique ou sérique.

Par la voie intrapéritonéale, il est rare d'observer des symptômes graves de l'anaphylaxie. Nous n'en avons jamais vu se produire par la voie sous-cutanée.

Ces différences de sensibilité suivant la voie de pénétration du blanc d'œuf, lors de la deuxième injection, tiennent évidemment à la consistance de l'œuf et à la plus ou moins grande rapidité de sa résorption ; celle-ci est très rapide lorsque l'injection est faite dans la circulation générale ; elle l'est un peu moins, lorsqu'on dépose le blanc d'œuf sous la dure-mère ; elle est, par contre, lente lorsque le blanc d'œuf se trouve dans la cavité péritonéale, et elle l'est encore beaucoup plus dans le cas d'injection sous-cutanée : d'où la toxicité si inégale du blanc d'œuf chez des cobayes pareillement sensibilisés. Nous y reviendrons plus loin.

Voici quelques exemples pour donner une idée de la toxicité du blanc d'œuf.

I. — 10 octobre. Cinq cobayes (nos 1 à 5) reçoivent sous la peau chacun 1 cent. cube de blanc d'œuf à 50 p. 100 (dans l'eau physiologique).

27 octobre. Epreuve par la veine jugulaire et par le cerveau :

— Cobaye n° 1, 310 gr., reçoit 1/2 cent. cube de blanc d'œuf dilué à moitié d'eau physiologique dans la veine jugulaire.

— Cobaye n° 2, 180 gr., reçoit dans la veine jugulaire 1 cent. cube de solution de blanc d'œuf au 1/500.

— Cobaye n° 3, 320 gr., reçoit dans la veine jugulaire 1 cent. cube de solution de blanc d'œuf au 1/1000.

— Cobaye n° 4, 340 gr., reçoit dans la veine jugulaire 1 cent. cube de solution de blanc d'œuf au 1/2000.

Sur les quatre cobayes, seul le dernier a résisté ; tous les autres ont été pris, dans les 2 minutes qui ont suivi l'injection, de troubles anaphylactiques, et ils y ont succombé en quelques instants.

— Cobaye n° 5, 270 gr., reçoit 1/100 cent. cube de blanc d'œuf sous la dure-mère ; une minute après, il présente les mêmes phénomènes que les cobayes précédents et il meurt en 3 minutes.

II. — 11 novembre. Quatre cobayes neufs (nos 71 à 74) reçoivent dans le péritoine chacun 1,5 cent. cube de sérum de lapin, lequel a été préparé par des injections multiples de blanc d'œuf dans la veine et dans le péritoine.

12 novembre. Epreuve par la veine jugulaire et par le cerveau :

— Cobaye n° 71, 210 gr., 1/100 cent. cube de blanc d'œuf dans la veine jugulaire; accidents classiques suivis de mort en 3 minutes.

— Cobaye n° 72, 160 gr., 1/100 cent. cube de blanc d'œuf dans le cerveau; troubles anaphylactiques sérieux; se remet.

— Cobaye n° 73, 230 gr., 1/500 cent. cube de blanc d'œuf dans la veine jugulaire; troubles anaphylactiques; mort en 2 minutes.

— Cobaye n° 74, 210 gr., 1/100 cent. cube de blanc d'œuf sous la dure-mère; troubles légers; l'animal se rétablit vite.

III. — 14 novembre. Cinq cobayes neufs (79 à 83) sont anaphylactisés avec du sérum (1,5 cent. cube) de lapin préparé :

15 novembre. Cobaye n° 79, 190 gr., reçoit dans la veine jugulaire 1/500 cent. cube de blanc d'œuf; mort au bout de 7 minutes (c'est probablement la dose minima mortelle).

— Cobaye n° 80, 200 gr., reçoit 1/40 de blanc dans le cerveau; symptômes classiques suivis de mort en 2 minutes.

— Cobaye n° 81, 150 gr., reçoit 1/100 cent. cube de blanc d'œuf dans le cerveau; accidents et mort en 1 minute.

— Cobaye n° 82, 160 gr., reçoit 1/200 cent. cube de blanc d'œuf dans le cerveau; accidents et mort en 2 minutes.

— Cobaye n° 83, 150 gr., reçoit 1/400 cent. cube de blanc d'œuf dans le cerveau; l'animal a des troubles légers et se remet vite.

Nous voyons donc que les cobayes, qu'ils soient anaphylactisés activement ou passivement, sont extrêmement sensibles à la deuxième injection de blanc d'œuf, surtout lorsque celle-ci est faite directement dans la circulation générale. Une dose renfermant 1/500 centimètre cube de blanc d'œuf, et quelquefois 1/1.000 centimètre cube, est déjà fatale, alors que, chez des cobayes normaux, l'injection de 1 ou 2 centimètres cubes de blanc d'œuf pur, soit d'une dose 500 et 1.000 fois supérieure, ne détermine jamais le moindre trouble.

*
* *

Et le blanc d'œuf *chauffé*, est-il toxique aussi ?

Rappelons que pour les sérums, nous avons vu que leur toxicité diminue en raison directe de la température à laquelle ils sont chauffés, et que les sérums chauffés à 100 degrés, même non coagulés, sont dépourvus de toute toxicité (1).

Pour ce qui concerne le lait, nous avons vu, au contraire, que même chauffé à 100 degrés, il ne perd pas sa toxicité ;

(1) *Comptes rendus de la Soc. de Biol.*, 16 mars 1907.

celle-ci ne commence à être sensiblement atténuée qu'à partir de 130 degrés, c'est-à-dire à partir du moment où la consistance du lait commence à se modifier (1).

Quant au blanc d'œuf, lorsqu'il est chauffé, il se comporte à la manière des sérums, comme le montrent les expériences suivantes :

Pour éviter la coagulation, nous diluons le blanc d'œuf de dix fois son volume d'eau distillée, puis nous le chauffons à 100 degrés pendant 10 minutes. Le liquide opalescent, mais tout à fait fluide, que l'on obtient de la sorte, est ensuite dilué d'eau physiologique dans le cas où l'on a besoin de fortes dilutions.

I. — 14 novembre. Trois cobayes, nos 76, 77, 79, sont passivement sensibilisés avec du sérum (1,5 cent. cube dans le péritoine) de lapin préparé :

15 novembre. N° 76, 155 gr., reçoit dans la veine jugulaire 1 cent. cube de solution de blanc d'œuf dilué dans 9 vol. d'eau distillée, puis chauffé à 100 degrés, pendant 10 minutes ; pas de réaction.

— N° 77, 170 gr., reçoit dans la veine jugulaire 1 cent. cube de solution de blanc d'œuf dilué dans 9 vol. d'eau physiologique, puis chauffé à 100 degrés pendant 10 minutes ; pas de réaction.

— N° 79, 190 gr., reçoit 1/500 cent. cube de solution *non* chauffée de blanc d'œuf ; accidents anaphylactiques suivis de mort au bout de 7 minutes (voir plus haut).

II. — 20 octobre. Trois cobayes (nos 51, 59, 57) sont activement sensibilisés, avec 0,5 cent. cube de blanc d'œuf sous la peau :

16 novembre. Cobaye n° 51, 310 gr., reçoit dans la veine jugulaire 3/10 cent. cube de solution de blanc d'œuf, chauffée à 100 degrés pendant 10 minutes ; l'animal a un peu de dyspnée, se remet vite.

— Cobaye n° 59, 300 gr., reçoit dans la veine jugulaire 1/200 cent. cube de solution de blanc d'œuf non chauffée ; aussitôt troubles classiques suivis de mort au bout de 2 minutes.

— Cobaye n° 57, 300 gr., reçoit dans la veine jugulaire 1/400 cent. cube de solution de blanc d'œuf non chauffée ; tousse, se gratte le nez, saute en l'air, mais se rétablit.

Donc, pour les cobayes sensibilisés dans des conditions pareilles, activement ou passivement, la toxicité du blanc d'œuf varie dans des proportions considérables, suivant que ce dernier a été chauffé ou non ; alors que la dose de 1/500 de blanc, non chauffé, est mortelle, la dose 50-150 fois plus élevée de blanc chauffé est supportée sans aucun inconvénient.

(1) Ces *Annales*, janvier 1909.

*
* *

Il nous reste à examiner la question relative à la *spécificité* de la fonction toxique du blanc d'œuf.

Un animal ayant reçu, en première injection, du blanc d'œuf de poule va-t-il réagir anaphylactiquement, si la deuxième injection, dite d'épreuve, est faite avec du blanc d'œuf de pigeon ou de tourterelle ?

I. — 28 octobre. Quatre cobayes (nos 7, 8, 9, 10) sont sensibilisés sous la peau avec 0,5 cent. cube de blanc d'œuf de poule, dilué dans 1 cent. cube d'eau physiologique.

25 novembre. Cobaye n° 7, reçoit dans la veine jugulaire 1/100 cent. cube de blanc d'œuf de pigeon ; pas de réaction.

— Cobaye n° 8, reçoit dans la veine jugulaire 1/10 cent. cube de blanc d'œuf de pigeon ; malaise prolongé.

— Cobaye n° 9, reçoit dans la veine jugulaire 1/2 cent. cube de blanc d'œuf de pigeon ; aussitôt, phénomènes anaphylactiques suivis de mort au bout de 1 minute.

— Cobaye n° 10, reçoit dans la veine jugulaire 1/100 cent. cube de blanc d'œuf de poule ; phénomènes anaphylactiques et mort en 3 minutes.

II. — 5 décembre. Deux cobayes sont activement sensibilisés sous la peau avec du blanc d'œuf de poule.

31 janvier. Un des cobayes est éprouvé dans la veine jugulaire avec 1/100 cent. cube de blanc d'œuf de tourterelle ; pas de réaction.

Le deuxième cobaye est éprouvé dans la veine jugulaire avec 1/100 cent. cube de blanc d'œuf de poule ; accidents spécifiques et mort au bout de 3 minutes.

III. — 30 janvier. Quatre cobayes neufs (n° 12 à 15), de 180 à 200 gr., sont sensibilisés dans le péritoine, passivement, avec 2 cent. cubes de sérum de lapin préparé.

31 janvier. Cobaye n° 12 reçoit dans la veine jugulaire 1/100 cent. cube de blanc d'œuf de poule ; accidents violents avec mort au bout de 1 minute.

— Cobaye n° 13 reçoit dans la veine jugulaire 1/100 cent. cube de blanc d'œuf de tourterelle ; pas de réaction.

— Cobaye n° 14 reçoit dans la veine jugulaire 1/10 cent. cube de blanc d'œuf de tourterelle ; malaise, dyspnée ; se remet.

— Cobaye n° 15 reçoit dans la veine jugulaire 1/2 cent. cube de blanc d'œuf de tourterelle ; troubles anaphylactiques violents ; mort au bout de 1 1/2 minute.

Il résulte de toutes ces expériences que la toxicité est spécifique, mais pas d'une façon absolue : un cobaye qui a été sensibilisé avec du blanc d'œuf de poule peut supporter jusqu'à 1/10 centimètre cube de blanc d'œuf de pigeon ou de tourte-

relle; mais, pour peu qu'on élève la dose de ce dernier (1/2 centimètre cube), on ne tarde pas provoquer des phénomènes anaphylactiques des plus caractérisés; le blanc d'œuf d'espèce étrangère n'est donc toxique qu'à des doses élevées, ce qui nous fait conclure que la spécificité de la réaction anaphylactique est réelle, mais non absolue.

*
* *

Avant de terminer l'étude de la fonction toxique du blanc d'œuf, nous voudrions revenir sur un fait que nous avons déjà signalé en passant, relatif à la toxicité du blanc d'œuf, qui est variable suivant le lieu de l'injection.

Nous visons notamment ce fait que, même chez des cobayes bien sensibilisés au blanc d'œuf, il est difficile de provoquer des troubles anaphylactiques par la voie péritonéale et surtout par la voie sous-cutanée; or, chez les cobayes sensibilisés au sérum, il en est tout autrement, comme nous le savons.

Voici quelques exemples à l'appui de ce que nous venons de dire :

I. — 20 octobre. Deux cobayes sont sensibilisés activement avec du blanc d'œuf sous la peau.

16 novembre. Un de ces cobayes (340 gr.) reçoit dans la veine jugulaire 1/100 cent. cube de blanc d'œuf; il meurt au bout de 3 minutes au milieu des symptômes anaphylactiques; l'autre cobaye (345 gr.) reçoit dans le péritoine 5 cent. cubes de blanc d'œuf pur; quelques minutes après, il se gratte le nez, il est mal à son aise, son poil est hérissé, mais il ne présente aucun symptôme sérieux et il se remet d'ailleurs assez vite.

II. — 28 octobre. Trois cobayes (nos 17, 18, 19) sont sensibilisés activement sous la peau avec 0,5 cent. cube de blanc d'œuf, dilué de son volume d'eau physiologique.

— Cobaye n° 17 est éprouvé avec 1/500 cent. cube de blanc d'œuf dans la veine jugulaire; une minute après, il est pris de phénomènes caractéristiques et il meurt en 3 minutes.

— Cobaye n° 18 reçoit dans le péritoine 5 cent. cubes de blanc d'œuf pur; pas de symptômes.

— Cobaye n° 19 reçoit sous la peau 5 cent. cubes de blanc d'œuf pur; pas de symptômes.

III. — Dans une autre série, un cobaye qui avait été passivement sensibilisé avec 2 cent. cubes de sérum de lapin préparé et qui avait reçu le lendemain 5 cent. cubes de blanc d'œuf pur dans le péritoine a présenté, peu de temps après cette injection, des troubles respiratoires, de la parésie, dont il s'est remis; mais il est mort 3 heures après.

On peut donc dire que, sauf des cas rares, les cobayes sensibilisés au blanc d'œuf se montrent à peu près réfractaires à l'épreuve intrapéritonéale ou sous-cutanée : ils sont à même de supporter une quantité de blanc d'œuf équivalente à plus de 2.000 doses mortelles, sans présenter de troubles anaphylactiques graves.

Ce fait n'est pas sans intérêt ; il montre, une fois de plus, que ce qui prime dans le déclenchement du choc anaphylactique, ce n'est pas la quantité de matière injectée, mais c'est la manière dont elle est injectée, ou d'une façon plus précise, c'est la rapidité avec laquelle la matière en question se combine avec la sensibilisine préformée. Si le cobaye tolère des milliers de doses mortelles de blanc d'œuf par la voie péritonéale ou sous-cutanée, c'est que, en raison de son état visqueux, la résorption étant très lente, la combinaison du blanc d'œuf résorbé avec la sensibilisine ne s'effectue pas brusquement comme dans le cas du sérum, mais peu à peu ; grâce à cette résorption lente et progressive, l'animal réalise, pour ainsi dire, lui-même sa propre vaccination par le procédé des injections subintrantes.

Nous persistons donc à croire, jusqu'à preuve du contraire, que le moment décisif dans la production du choc anaphylactique, n'est pas créé par l'apparition d'une nouvelle substance qui serait un produit de combinaison entre l'antigène et l'anticorps, mais que le choc est surtout créé par l'instantanéité de la combinaison indiquée.

III

FONCTION VACCINANTE.

En entreprenant cette étude sur l'anaphylaxie du blanc d'œuf, nous visions surtout le point suivant : c'était de savoir si le procédé des petites doses et des vaccinations subintrantes, décrit par l'un de nous, s'applique à d'autres substances que le sérum. Nous y avons été d'autant plus incité que Armit (1), dans un excellent travail fait avec du blanc d'œuf chimiquement pur,

(1) *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, I., Origin., t. VI ; 43 août 1910, p. 703.

affirme avoir souvent échoué à conférer à ses cobayes l'anti-anaphylaxie, en appliquant notre méthode de vaccination.

Depuis notre première publication, le principe de la vaccination par petites doses et des doses subintrantes a été appliqué avec succès à des substances variées, chez des espèces animales différentes et par des auteurs différents.

Il nous a donc paru d'autant plus intéressant de rechercher la cause de l'échec dans les recherches d'Armit.

Nos expériences ont été faites, comme toutes celles qui précèdent, avec du blanc d'œuf tel qu'il se trouve dans la nature, non traité par des réactifs chimiques.

Elles ont porté sur des centaines d'animaux, sensibilisés activement et passivement. Or, disons-le de suite, jamais nous n'avons vu un cobaye réfractaire à la vaccination ; nous trouvons même que s'il y a une substance pour laquelle le principe des vaccinations subintrantes ressort avec le plus d'évidence, c'est bien le blanc d'œuf.

En voici quelques exemples choisis au hasard :

10 octobre. Une série de cobayes sont sensibilisés activement avec du blanc d'œuf.

28 octobre. Un de ces cobayes est éprouvé avec 1/100 cent. cube de blanc d'œuf par la veine jugulaire ; il a aussitôt des accidents et meurt en 2 minutes.

Un autre cobaye est éprouvé avec 1/500 cent. cube de blanc d'œuf ; une minute après l'injection, il est pris également d'accidents anaphylactiques et il meurt en 4 minutes.

Cela établi, nous soumettons un troisième cobaye de la même série à des vaccinations subintrantes, et nous commençons par lui injecter 1/2000 cent. cube de blanc d'œuf dans la veine jugulaire ; pas de réaction ; 10 minutes après, nous lui injectons 1/500 cent. cube, c'est-à-dire une dose mortelle, il ne réagit pas ; 10 minutes après, il reçoit 1/50 cent. cube sans réagir ; 10 minutes après, on injecte dans la veine jugulaire du côté opposé, 1/3 cent. cube ; pas de réaction ; voyant cela, nous lui injectons, 10 minutes après, 2 cent. cubes de blanc d'œuf non dilué ; aussitôt après l'injection, le cobaye est mal à son aise, mais il se rétablit très vite.

Voilà donc un cobaye sensibilisé activement, qui, à la faveur de quatre injections subintrantes, faites en l'espace de quarante minutes, a pu faire face à 4.000 doses mortelles, sans ressentir le moindre trouble anaphylactique.

14 novembre. Une série de cobayes sont sensibilisés passivement avec du sérum (1,5 cent. cube) de lapin préparé.

15 novembre. On établit la dose mortelle : elle est de $1/500$ cent. cube de blanc d'œuf par la veine et de $1/200$ cent. cube par le cerveau.

Un des cobayes de cette série reçoit, à 10 h. 30, à titre de vaccin, $1/1000$ cent. cube dans la veine jugulaire, puis à 11 h. 40 minutes, $1/100$ cent. cube dans le cerveau ; pas de réaction.

16 novembre. Ce même cobaye, ainsi qu'un autre cobaye sensibilisé (150 gr.) de la même série, reçoivent : à 2 h. 45 minutes, $1/4$ cent. cube de blanc d'œuf dans le péritoine ; à 5 heures, $1/10$ cent. cube dans la veine jugulaire ; à 5 h. 20 m. 2 cent. cubes de solution de blanc d'œuf (dilué à moitié), dans la veine jugulaire ; pas de réaction.

Voilà donc deux cobayes, sensibilisés passivement, qui ne manifestent pas le moindre trouble à la suite de l'injection de 2 centimètres cubes de blanc d'œuf (dilué à moitié d'eau physiologique), alors que leurs témoins succombent, en deux ou trois minutes, déjà à la dose de $1/500$ centimètre cube.

I. — 11 novembre. Deux cobayes sensibilisés passivement hier, sont injectés : un, témoin, 230 gr., avec $1/500$ cent. cube de blanc d'œuf dans la veine jugulaire ; accidents anaphylactiques ; mort en une $1/2$ minute ; l'autre, 210 gr., avec $1/100$ cent. cube de blanc d'œuf dans le cerveau ; il réagit à peine ; on lui injecte, 30 minutes après, $1/100$ cent. cube de blanc d'œuf dans la veine jugulaire. Pas de réaction.

II. — Deux cobayes de 330 gr. et 300 gr. d'une série qui a été sensibilisée activement le 20 octobre avec du blanc d'œuf sous la peau, sont ainsi traités : à 10 heures du matin, on leur injecte, dans la veine jugulaire, $1/400$ cent. cube de blanc d'œuf ; à 2 heures de l'après-midi, on leur injecte, à chacun, $1/4$ cent. cube de blanc d'œuf dans le cerveau ; les animaux sont en léger état de stupeur par suite, probablement, de compression exercée par le blanc d'œuf pur, mais se rétablissent très vite ; or, pour les cobayes de cette série il a été établi, dans une expérience préalable, que la dose mortelle, par la veine jugulaire, était $1/200$ cent. cube, et par le cerveau, de $1/50$ cent. cube.

Nous voyons donc, en plus, que, d'une part, on peut vacciner par la voie cérébrale, et l'animal est à même de supporter, déjà trente minutes après, cinq doses mortelles par la voie veineuse ; d'autre part, au moyen d'une faible dose injectée préventivement dans la veine jugulaire, on arrive rapidement à préserver le cobaye contre plus de dix doses mortelles injectées dans le cerveau.

Le procédé des petites doses, ainsi que celui des injections subintrantes, s'applique donc aux cobayes anaphylactisés au blanc d'œuf avec la même constance absolue qui a été constatée pour les animaux anaphylactisés au sérum ou au lait.

*
* *

Nous avons vu, dans les chapitres précédents, que le blanc d'œuf chauffé à 100 degrés conserve encore sa fonction sensibilisante, mais perd à peu près complètement sa fonction toxique. La fonction vaccinnante se modifie-t-elle également?

I. — 15 novembre. Une série de petits cobayes (150 à 190 gr.) sont sensibilisés passivement avec du sérum de lapin préparé.

16 novembre. A l'épreuve intraveineuse, ils sont d'une hypersensibilité telle que 1/500 cent. cube suffit pour les tuer en 1 ou 2 minutes; la dose de 1/200 cent. cube en tue aussi rapidement, en injection intracérébrale.

Un des cobayes de cette série reçoit dans la veine jugulaire 1/10 cent. cube de blanc d'œuf chauffé à 100 degrés pendant 10 minutes (= 1 cent. cube de solution au dixième dans l'eau distillée); l'animal ne réagit pas. Quatre heures après, il reçoit, par la même veine, 1/100 cent. cube de blanc d'œuf non chauffé, c'est-à-dire une dose au moins 5 fois mortelle; il ne réagit pas non plus.

Un autre cobaye de la série reçoit, dans la veine jugulaire, 1/10 cent. cube de blanc d'œuf chauffé à 100 degrés pendant 10 minutes (= 1 cent. cube de solution au dixième dans l'eau physiologique); une heure après, on lui injecte dans le cerveau 1/100 cent. cube, c'est-à-dire une dose sûrement mortelle; pas de réaction.

II. — 16 novembre. Un cobaye, 310 gr., sensibilisé activement, reçoit, dans la veine, à 10 h. 5 minutes, 3/10 cent. cube de blanc d'œuf chauffé à 100 degrés pendant 10 minutes; il a de la dyspnée, mais se remet vite; à 10 h. 50 minutes, on lui injecte, dans la veine, 3/100 cent. cube de blanc d'œuf non chauffé, c'est-à-dire une dose au moins six fois mortelle (deux témoins ont succombé à 1/200 cent. cube); le cobaye a une forte dyspnée, un malaise prolongé, mais finit par se remettre.

29 novembre. Deux cobayes sensibilisés la veille passivement, reçoivent, dans le péritoine: l'un, un mélange de 1 cent. cube de blanc d'œuf avec 3 cent. cubes d'eau distillée, chauffé à 100 degrés pendant 10 minutes; l'autre, le même mélange, mais non chauffé. Trois heures après, on éprouve les cobayes avec 1/100 cent. cube dans la veine jugulaire. Alors que le premier, ayant été vacciné par le blanc chauffé, succombe en quelques minutes avec des phénomènes anaphylactiques classiques, le deuxième, qui a été vacciné avec du blanc d'œuf non chauffé, a très bien résisté.

III. — 14 décembre. Cobaye sensibilisé (270 gr.) est injecté avec 1/100 cent. cube de blanc d'œuf chauffé à 100 degrés pendant 10 minutes, dans la veine; pas de réaction.

15 décembre. On lui injecte 1/100 cent. cube de blanc d'œuf non chauffé, également dans la veine jugulaire; 2 minutes après, accidents anaphylactiques et mort.

IV. — 16 décembre. Cobaye, sensibilisé activement le 28 novembre, reçoit à 11 heures du matin, dans le péritoine, 5 cent. cubes de blanc d'œuf dilué au dixième et chauffé à 100 degrés pendant 10 minutes; à 4 heures de l'après-

mid, on l'éprouve avec 1/100 cent. cube de blanc d'œuf non chauffé; accidents classiques; mort en 2 minutes.

16 décembre. Cobaye, sensibilisé activement le 28 novembre, reçoit, dans la veine jugulaire, 1/10 cent. cube de blanc d'œuf chauffé à 100 degrés pendant 10 minutes; le lendemain (17 décembre), on l'éprouve avec 1/100 cent. cube de blanc d'œuf non chauffé; accidents anaphylactiques et mort en 3 minutes.

Toutes ces expériences montrent que, dans le blanc d'œuf chauffé, la fonction vaccinante est incomparablement moins prononcée que dans le blanc d'œuf non chauffé, ce qui concorde, d'ailleurs, avec des phénomènes que nous avons signalés jadis pour l'anaphylaxie sérique.

*
* *

La fonction vaccinante est-elle spécifique? Les expériences qui suivent montrent qu'elle l'est très strictement.

I. — 23 novembre. Cobaye sensibilisé activement le 28 octobre avec du blanc d'œuf de poule, reçoit dans la veine jugulaire 1/10 cent. cube de blanc d'œuf de pigeon; il a de la dyspnée et un malaise prolongé.

28 novembre. On lui injecte, dans la veine jugulaire, 1/100 cent. cube de blanc d'œuf de poule; aussitôt accidents anaphylactiques, suivis de mort au bout de 1 minute.

II. — 25 novembre. Cobaye sensibilisé activement le 28 octobre avec du blanc d'œuf de poule, reçoit, dans le péritoine, 1 cent. cube de blanc d'œuf de pigeon dans 2 cent. cubes d'eau physiologique. Trois heures après, on procède à l'injection d'épreuve (1/100 cent. cube de blanc d'œuf de poule dans la veine); 1 minute après, accidents anaphylactiques; mort en 4 minutes.

Le cobaye témoin, sensibilisé dans les mêmes conditions, qui avait reçu dans le péritoine 1 cent. cube de blanc d'œuf de poule, résista trois heures après, à l'épreuve, sans manifester la moindre réaction.

Il est donc manifeste que l'animal anaphylactisé au blanc d'œuf d'une espèce, ne peut guère être vacciné que par le blanc d'œuf de la même espèce.

*
* *

Au cours de nos expériences sur l'anaphylaxie lactique (1), nous avons montré que l'on pouvait sensibiliser des cobayes

(1) *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 23 mars 1908; t. LXIV; p. 888; voir ces *Annales*, janvier 1909.

au lait, puis les désensibiliser, en leur administrant du lait par la voie rectale ou buccale. Dans le cas de l'anaphylaxie sérique, nous avons vu que ce procédé de vaccination donne des résultats moins constants (1).

Dans le cas d'anaphylaxie au blanc d'œuf, la voie digestive se prête très bien à la vaccination (2), mais à la condition que l'on ne soit pas très pressé; tandis que l'antianaphylaxie au blanc d'œuf s'établit en quelques instants lorsqu'on vaccine par la voie veineuse, ou bien en quelques heures lorsqu'on vaccine par la voie péritonéale, elle demande, au moins, deux jours par la voie buccale et quatre jours par la voie rectale.

I. — 19 décembre. Deux cobayes sensibilisés activement le 28 novembre avec du blanc d'œuf sous la peau, reçoivent chacun 5 cent. cubes de blanc d'œuf par la bouche.

21 décembre, c'est-à-dire, deux jours après, éprouvés par la veine jugulaire avec 1/100 cent. cube de blanc d'œuf, aucun d'eux n'a eu le moindre trouble.

Or, le témoin, sensibilisé dans les mêmes conditions et éprouvé en même temps que les précédents, a succombé avec des phénomènes classiques en moins de 2 minutes.

II. — 21 décembre. Six cobayes (nos 28 à 33), sensibilisés activement, reçoivent chacun 5 cent. cubes de blanc d'œuf par la bouche.

22 décembre. Cobayes n° 28 et n° 29 sont éprouvés par la voie veineuse avec 1/100 cent. cube de blanc d'œuf; tous les deux sont pris d'accidents caractéristiques et meurent en l'espace de 2-3 minutes.

23 décembre. Cobaye n° 30 est injecté avec 1, 100 cent. cube dans la veine; toux à répétition; dyspnée; se remet.

24 décembre. Cobaye n° 31 est injecté avec 1/100 cent. cube dans la veine; tousse un peu; se remet vite.

28 décembre. Cobaye n° 32 est injecté avec 1/100 cent. cube dans la veine; pas de symptômes.

5 janvier. Cobaye n° 33 est injecté avec 1/100 cent. cube dans la veine; accidents anaphylactiques; mort en 1 minute.

III. — 10 février. Trois cobayes (57, 58, 59) sensibilisés passivement hier, reçoivent par le rectum chacun 1 cent. cube de blanc d'œuf dilué dans 4 cent. cubes d'eau physiologique.

11 février. Cobaye n° 57 est éprouvé avec 1/100 cent. cube de blanc d'œuf dans la veine jugulaire: aussitôt accidents anaphylactiques suivis de mort.

12 février. Cobaye n° 58 est éprouvé avec 1/100 cent. cube de blanc d'œuf dans la veine jugulaire: 2 minutes après, accidents anaphylactiques et mort.

14 février. Cobaye n° 59 est éprouvé avec 1/100 cent. cube de blanc d'œuf dans la veine jugulaire: léger malaise dont il se remet très vite.

(1) *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 21 novembre 1908; t. LXV; p. 478.

(2) *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 11 février 1911; t. LXX; p. 204.



Quelle est la durée de l'immunité antianaphylactique chez des cobayes sensibilisés au blanc d'œuf? Comme le montrent les expériences, elle est très courte, beaucoup plus courte que celle que nous avons observée dans l'anaphylaxie sérique.

I. — 21 novembre. Cobaye sensibilisé reçoit dans la veine jugulaire 1/1000 c. c. de blanc d'œuf (dans cette série 1/500 a été la dose mortelle).

28 novembre. Ce cobaye est éprouvé dans la veine jugulaire avec 1/100 cent. cube de blanc d'œuf; accidents anaphylactiques et mort en 3 minutes.

II. — 13 décembre. Trois cobayes sensibilisés (80, 81, 82), reçoivent 5 cent. cubes de blanc d'œuf : deux (80, 81) dans le péritoine, un (82) sous la peau.

25 décembre. Cobaye n° 80 est éprouvé avec 1/100 cent. cube dans la veine; il a du malaise; mais aucun des symptômes anaphylactiques.

4 janvier. Cobayes n° 81 et n° 82 sont éprouvés avec 1/100 c. c. dans la veine; 1 minute après, les deux cobayes sont pris d'accidents classiques et meurent au bout de 1 et 3 minutes.

L'immunité antianaphylactique vis-à-vis du blanc d'œuf est donc en rapport avec la dose vaccinante; elle est de sept jours lorsque cette dose est faible; elle ne dépasse pas trois semaines, alors même que cette dose est massive.

Faisons remarquer que lorsqu'on vaccine par la voie buccale l'animal sensibilisé au blanc d'œuf, l'immunité antianaphylactique ne dure pas longtemps non plus; passé quinze jours, on ne la retrouve plus (voir à la page précédente : cobaye n° 33; expér. du 5 janvier).

IV

ANAPHYLAXIE PAR ET POUR LE BLANC D'ŒUF CHAUFFÉ

Dans les chapitres qui précèdent, il a été question des fonctions sensibilisante, toxique et vaccinante du blanc d'œuf tel qu'on le trouve dans les conditions normales.

Nous avons signalé, en passant, comment ces diverses fonctions se modifient sous l'influence du chauffage (1).

(1) Partout où il est question de blanc d'œuf chauffé, il faut entendre une solution de blanc d'œuf au dixième dans l'eau distillée, chauffée à 100 degrés

Nous avons vu notamment que le blanc d'œuf chauffé à 100 degrés est : 1° sensibilisant, quoique faiblement, 2° n'est pas toxique et 3° à peine vaccinant.

Toutes ces modifications ont été constatées par rapport au blanc d'œuf non chauffé; autrement dit : 1° le blanc d'œuf chauffé ne sensibilise que faiblement vis-à-vis du blanc d'œuf *non* chauffé; 2° le blanc d'œuf chauffé n'est pas toxique pour un cobaye sensibilisé avec du blanc *non* chauffé, et 3° le blanc d'œuf chauffé est à peine vaccinant contre le blanc d'œuf *non* chauffé, chez un cobaye sensibilisé avec du blanc d'œuf *non* chauffé.

Or, les choses se présentent sous un aspect tout différent, lorsque les opérations sont faites uniquement avec du blanc chauffé à 100 degrés, c'est-à-dire, lorsque le blanc d'œuf chauffé sert à la fois pour la sensibilisation, pour l'épreuve de la toxicité et pour la vaccination. On voit alors se produire ce phénomène surprenant, que le blanc d'œuf chauffé à 100 degrés, réputé, comme les sérums chauffés d'ailleurs, comme dénué de tout pouvoir toxique et à peine vaccinant, se révèle comme éminemment toxique et parfaitement vaccinant.

I. — 27 octobre. Cinq cobayes neufs (n° 19 à 23) sont sensibilisés sous la peau avec 2 cent. cubes de solution de blanc d'œuf dilué au quart (5 cent. cubes de blanc d'œuf + 15 cent. cubes d'eau distillée), chauffée à 100 degrés pendant 10 minutes.

12 novembre. Cobaye n° 19 reçoit dans la veine jugulaire 1/100 cent. cube de blanc d'œuf non chauffé; tousse; se remet.

21 novembre. Cobaye n° 20 reçoit dans la veine jugulaire 1/100 cent. cube de blanc d'œuf non chauffé; au bout de 5 minutes malaise, d'ailleurs, passer.

— Cobaye n° 21 reçoit dans la veine jugulaire 1/10 cent. cube de blanc d'œuf non chauffé; 2 minutes après, phénomènes caractéristiques se terminant par la mort en 1 minute.

— Cobaye n° 22 reçoit dans la veine jugulaire 1/10 cent. cube de blanc d'œuf chauffé à 100 degrés pendant 10 minutes; aussitôt troubles anaphylactiques violents aboutissant à la mort au bout de 1 minute.

— Cobaye n° 23 reçoit dans la veine jugulaire 1/100 cent. cube de blanc d'œuf chauffé à 100 degrés pendant 10 minutes; accidents classiques; mort en 1 1/2 minute.

II. — 21 novembre. Quatre cobayes neufs reçoivent, en injection sous

pendant 10 minutes; les dilutions ultérieures sont faites avec de l'eau physiologique.

cutanée, chacun 2 cent. cubes de solution de blanc d'œuf au dixième, chauffée à 100 degrés pendant 10 minutes.

13 décembre. Cobaye n° 47, 360 gr., reçoit dans la veine jugulaire 1/100 cent. cube de blanc d'œuf chauffé; 1 minute après, phénomènes classiques suivis de mort.

— Cobaye n° 48, 340 gr., reçoit dans la veine jugulaire 1/100 cent. cube de blanc d'œuf non chauffé; 5 minutes après, malade, se remet complètement.

— Cobaye n° 59, 270 gr., reçoit dans la veine jugulaire 1/100 cent. cube de blanc d'œuf de *pigeon*, chauffé à 100 degrés pendant 10 minutes. Un peu de gêne respiratoire.

— Cobaye n° 92, 310 gr., reçoit dans la veine jugulaire 1/100 cent. cube de blanc d'œuf chauffé; 2 minutes après, accidents classiques suivis de mort.

Il résulte donc de ces expériences que les cobayes qui avaient été anaphylactisés activement avec du blanc d'œuf chauffé (100 degrés pendant dix minutes), se montrent relativement peu sensibles au blanc d'œuf normal (dose mortelle = 1/10) et, par contre, très sensibles au blanc d'œuf chauffé (dose mortelle = 1/100), lequel est, comme nous le savons, tout à fait inoffensif pour des cobayes normalement sensibilisés.

*
* *

L'expérience montre que l'on peut également sensibiliser *passivement* des cobayes de manière qu'ils réagissent anaphylactiquement au blanc d'œuf chauffé. Pour cela, il faut que les lapins, fournisseurs du sérum anaphylactisant, aient été pendant un certain temps injectés uniquement avec du blanc d'œuf chauffé.

Les lapins n°s 1, 2, 3 fournisseurs de sérum anaphylactisant, sont injectés pendant trois jours de suite avec 20 cent. cubes de solution de blanc d'œuf chauffé, dans la veine marginale de l'oreille; six jours après, on leur injecte, dans le péritoine, trois jours de suite, 20 cent. cubes de blanc d'œuf chauffé; puis, on recommence l'opération six jours après. Le sérum est d'autant plus actif que la masse totale de blanc d'œuf injectée a été plus élevée. Huit jours après la dernière injection, on saigne les lapins.

I. — 14 février. Cinq cobayes neufs (a, b, c, d, e), (200 à 220 gr.), sont sensibilisés passivement avec du sérum du lapin n° 3; chaque cobaye est injecté dans le péritoine avec 2 cent. cubes de sérum.

15 février. Cobaye (a), reçoit dans la veine jugulaire 1/100 cent. cube de blanc d'œuf chauffé à 100 degrés pendant 10 minutes; 1 minute après, phénomènes suivis de mort.

— Cobaye (b), reçoit dans la veine jugulaire 1/200 cent. cube de blanc d'œuf chauffé à 100 degrés pendant 10 minutes; accidents et mort en 3 minutes.

— Cobaye (c), reçoit dans la veine jugulaire 1/400 cent. cube de blanc d'œuf chauffé à 100 degrés pendant 10 minutes; accidents anaphylactiques; mort en 1 minute.

— Cobaye (d), reçoit dans la veine jugulaire 1/100 cent. cube de blanc d'œuf *non* chauffé; très malade, mais se rétablit.

— Cobaye (e), reçoit dans la veine jugulaire 1/100 cent. cube de blanc d'œuf *non* chauffé; accidents anaphylactiques; mort au bout de 3 minutes.

II. — 14 février. Deux cobayes neufs (f, g), de 210 et 223 gr., sont passivement sensibilisés avec du sérum de lapin qui a été injecté avec du blanc d'œuf *non* chauffé; chaque cobaye reçoit dans le péritoine 2 cent. cubes de sérum de lapin.

15 février. Cobaye (f), reçoit dans la veine jugulaire 1/100 cent. cube de blanc d'œuf chauffé (100 degrés pendant 10 minutes); pas de réaction.

— Cobaye (g), reçoit dans la veine jugulaire 1/100 cent. cube de blanc d'œuf *non* chauffé; accidents anaphylactiques; mort en 2 minutes.

Nous voyons donc qu'un lapin qui avait été traité avec du blanc d'œuf chauffé, possède un sérum différent de celui qui a été traité avec du blanc d'œuf *non* chauffé: tandis que ce dernier est capable de conférer au cobaye l'anaphylaxie passive uniquement vis-à-vis du blanc d'œuf *non* chauffé, le premier peut rendre le cobaye hypersensible à la fois au blanc d'œuf *non* chauffé et mieux encore au blanc d'œuf chauffé.

* *

Il nous reste à examiner la fonction vaccinnante du blanc d'œuf chauffé chez les cobayes ayant été sensibilisés au blanc d'œuf chauffé.

Nous savons maintenant que l'on peut rendre des cobayes hypersensibles au blanc d'œuf chauffé, et cela soit d'une manière active, soit d'une manière passive.

Il s'agit maintenant de savoir: 1° si l'on peut conférer à des cobayes ainsi sensibilisés, un état antianaphylactique; 2° si l'on peut réaliser cette antianaphylaxie en se servant du blanc d'œuf chauffé, lequel possède, comme nous l'avons vu, en temps ordinaire, des fonctions vaccinnantes à peine prononcées.

I. — 21 novembre. Deux cobayes (n° 46 et n° 30) sont activement sensibilisés avec du blanc d'œuf chauffé, sous la peau.

13 décembre. Cobaye n° 46 reçoit, à 10 heures du matin, à titre de vaccin, 5 cent. cubes de solution au dixième (5/10 cent. cube) de blanc d'œuf chauffé, dans le péritoine. A 5 heures du soir, on l'éprouve par la veine jugulaire avec 1/100 cent. cube de blanc d'œuf chauffé, dose sûrement mortelle pour les témoins; le cobaye tousse, a de la dyspnée, puis se rétablit vite.

— Cobaye n° 50 reçoit, à 10 heures du matin, à titre de vaccin, 5 cent. cubes de solution au centième (5/100 cent. cube) de blanc d'œuf chauffé, dans le péritoine; on l'éprouve en même temps que le précédent, dans les mêmes conditions; il tousse, puis se remet très vite.

II. — 14 février. Plusieurs cobayes sont sensibilisés passivement avec du sérum de lapin, lequel avait été traité avec du blanc d'œuf chauffé; chaque cobaye reçoit 2 cent. cubes de ce sérum dans le péritoine.

15 février. Après avoir établi que la dose mortelle de blanc d'œuf chauffé, en injection intraveineuse, est de 1/400 cent. cube, nous soumettons un cobaye de cette série, pesant 210 grammes, à une série de vaccinations subintrantes :

On lui injecte d'abord dans la veine jugulaire 1/800 cent. cube de blanc d'œuf chauffé; pas de réaction; 10 minutes après, on lui injecte par la même veine 1/400 cent. cube, dose sûrement mortelle; il a des soubresauts, de la dyspnée, mais se remet; on lui injecte ensuite successivement, à 10 minutes d'intervalle, d'abord 1/200 cent. cube, 1/50 cent. cube, puis 1/10 cent. cube de blanc d'œuf chauffé, dans la veine jugulaire du côté opposé. Pas de réaction. Pour terminer, on lui injecte, dans la même veine, 1/10 cent. cube de blanc d'œuf *non* chauffé. Pas de réaction.

Ces expériences montrent que chez les cobayes qui sont hypersensibles au blanc d'œuf chauffé, ce dernier peut faire office de vaccin, au même titre que le blanc d'œuf non chauffé chez des cobayes qui sont anaphylactisés avec du blanc d'œuf non chauffé. Le procédé de petites doses et des injections subintrantes est intégralement applicable au blanc d'œuf chauffé, lequel, comme nous l'avons vu, se montre à peu près dénué de propriétés vaccinales dans les conditions ordinaires.

Il existe donc, au point de vue anaphylactique, une différence profonde entre le blanc d'œuf chauffé et non chauffé; cette différence est telle que nous sommes obligés d'admettre qu'elle n'est pas seulement d'ordre physique, comme on aurait dû le croire au premier abord, mais qu'elle intéresse également la constitution chimique des substances en question. Toutes les réactions anaphylactiques que manifeste le blanc d'œuf chauffé, nous conduisent, en effet, à conclure que, dans ce dernier, il doit exister une substance nouvelle qui n'existe pas dans le blanc d'œuf cru, une substance qui s'est formée aux dépens de ce dernier et qui est capable, à elle seule, d'ana-

phylactiser l'animal, tout comme le ferait une albumine étrangère.

En terminant ce travail, nous tenons à remercier tout particulièrement notre préparateur, M. Fréd. Jupille, de son concours précieux et dévoué.

CONCLUSIONS

I. — Le blanc d'œuf normal injecté sous la peau de cobayes crée chez eux, au bout de douze à vingt jours, un état d'anaphylaxie active.

Le blanc d'œuf chauffé sensibilise également, mais d'une façon moins prononcée.

Le sérum de lapins ayant été injectés avec du blanc d'œuf non chauffé, confère aux cobayes neufs un état d'anaphylaxie passive très accentuée.

Cette anaphylaxie passive ne s'établit pas instantanément, mais plusieurs heures après l'injection du sérum. L'injection simultanée de sérum et de blanc d'œuf n'amène pas de troubles anaphylactiques. Il en est de même de l'injection du précipité se formant après contact du sérum et du blanc d'œuf.

Les cobayes sensibilisés activement conservent leur état anaphylactique pendant de nombreux mois. Les cobayes sensibilisés passivement se désensibilisent au bout de quinze jours.

II. — Les cobayes anaphylactisés au blanc d'œuf, d'une manière active ou passive, acquièrent une hypersensibilité telle qu'ils succombent en quelques instants, à des doses minimales dans la veine jugulaire ($1/100$ à $1/500$ cent. cube) ou sous la dure-mère ($1/50$ à $1/200$ cent. cube).

Par contre, si sensibilisés que soient les cobayes, ils sont indifférents à l'injection, dans la veine ou dans le cerveau, de blanc d'œuf chauffé à 100 degrés.

L'anaphylaxie au blanc d'œuf peut être considérée comme spécifique, vu que les cobayes anaphylactisés avec du blanc d'œuf de poule ne réagissent que faiblement à l'injection de blanc d'œuf de pigeon ou de tourterelle.

L'hypersensibilité, si facile à mettre en évidence par les

voies intraveineuse ou intracérébrale, n'apparaît point à la suite d'injection d'une dose mille fois supérieure, faite dans le péritoine ou sous la peau. La résorption étant inégale par ces différentes voies, il s'ensuit que le déclenchement du choc anaphylactique dépend moins de la quantité de matière injectée que de la rapidité avec laquelle celle-ci est résorbée et avec laquelle elle s'unit à la sensibilisine préformée; le choc anaphylactique paraît donc être surtout fonction de l'instantanéité de la combinaison en question.

III. — Le procédé de vaccination par petites doses et par doses subintrantes ne souffre aucune exception chez les cobayes sensibilisés, soit activement, soit passivement, au blanc d'œuf. Aussi bien chez les uns que chez les autres, on peut créer par ce procédé un état antianaphylactique tel qu'ils soient à même de résister, quelques heures après, à des centaines et à des milliers de doses mortelles dans la veine jugulaire.

Le pouvoir vaccinant est très peu prononcé dans du blanc d'œuf chauffé à 100 degrés.

Le pouvoir vaccinant est strictement spécifique : un animal anaphylactisé au blanc d'œuf d'une espèce, ne peut guère être vacciné que par le blanc d'œuf de la même espèce.

La vaccination peut être réalisée non seulement par des injections sous-cutanée, intrapéritonéale, intraveineuse et intracérébrale, mais encore par l'administration du blanc d'œuf par la bouche ou par le rectum; dans ces derniers cas, l'état antianaphylactique n'apparaît qu'au bout de deux à quatre jours.

Quel que soit le mode de vaccination, l'état antianaphylactique vis-à-vis du blanc d'œuf est de courte durée; il ne va pas au delà de trois semaines.

IV. — Les cobayes sensibilisés activement avec du blanc d'œuf chauffé, se montrent extrêmement sensibles à la réinjection de ce dernier.

On peut également sensibiliser passivement vis-à-vis du blanc d'œuf chauffé, en injectant à des cobayes neufs du sérum de lapins qui ont été traités, à plusieurs reprises, avec du blanc d'œuf chauffé.

Chez des cobayes sensibilisés au blanc d'œuf chauffé, soit activement, soit passivement, on peut empêcher le choc anaphylactique, au moyen de vaccinations subintrantes, en employant, à titre de vaccin, le blanc d'œuf chauffé.

En nous basant sur les réactions anaphylactiques du blanc d'œuf chauffé, nous devons conclure que ce dernier a une constitution chimique différente de celle du blanc d'œuf cru.

DE L'INFLUENCE DE L'ARSÉNOBENZOL (« 606 »)

SUR LA FORMULE LEUCOCYTAIRE DU SANG

par W. L. YAKIMOFF (de Saint-Petersbourg).

(Travail du laboratoire de M. le professeur MESNIL.)

Au sujet de l'action de la nouvelle préparation de M. le professeur Ehrlich (« 606 » ou *dioxydiamidoarsénobenzol*) sur le sang et en particulier sur ses éléments figurés, nous n'avons que quelques remarques faites en passant par les auteurs qui ont injecté ce médicament à des syphilitiques. Jusqu'ici il n'existe pas de recherches systématiques faites sur ce point.

Il faut dire que, d'une façon générale, les préparations trypanocides ont été fort peu étudiées au point de vue de la formule hémoleucocytaire. Les auteurs qui se sont spécialement intéressés à cette question sont peu nombreux. A citer : Leger, qui a expérimenté avec de l'émétique; Yakimoff, qui s'est servi de l'atoxyl; Thomas, Uhlenhuth et ses collaborateurs, qui se sont bornés à de rapides aperçus sur l'action leucocytaire de l'atoxyl; Yakimoff et Nina Kohl-Yakimoff, qui ont étudié le trypanroth.

En ce qui concerne l'action du « 606 » sur la formule hémoleucocytaire, nous avons peu de données.

Neisser obtient une hyperleucocytose forte et durable. Le chiffre des leucocytes peut atteindre 38.000.

Herxheimer et Schonnenfeld observent que l'hyperleucocytose due au « 606 » est plus forte que celle due au calomel (avec le « 606 », 28.000 leucocytes; avec le calomel, 18.000 seulement au maximum).

Braendel et Clingstein ont obtenu une leucocytose au-dessous de 13.000 leucocytes.

D'autres auteurs parlent fréquemment d'une hyperleucocytose, sans donner de chiffres (par exemple : Fränkel et Grouven).

D'après Spiethoff, en général douze heures après l'injection de 0 gr. 60 d'arsénobenzol, on observe une augmentation des leucocytes portant surtout sur les neutrophiles. Cette leucocy-

tose peut durer plusieurs jours. Elle dépend exclusivement de l'action de l'arsénobenzol sur la moelle des os, et ne relève ni de la réaction thermique ni de la réaction locale. On l'observe aussi bien quand on injecte le « 606 » en solution que quand on l'administre en suspension dans un véhicule, avec les solutions contenant de l'alcool méthylique comme avec les solutions qui n'en contiennent pas.

Dans le travail de Wechselmann on lit : « Das Blut hat Herr Dr Hans Hirschfeld genau untersucht und ausser einer geringfügigen leucocytenvermehrung in einzellen keine Veränderungen gefunden ».

Enfin Torday a traité avec l'arsénobenzol deux malades atteints d'une forte anémie et un malade leucémique.

Un anémique avait, avant l'injection, 2.000.000 de globules rouges et 2.500 globules blancs et 40 p. 100 d'hémoglobine. Vingt-six jours après cette constatation, il y avait 700 leucocytes. Trois jours après l'injection de 0 gr. 3 de la préparation d'Ehrlich, on a trouvé 2.216.000 globules rouges, 900 leucocytes, et 35 p. 100 d'hémoglobine; le taux des polynucléaires était normal et il n'y avait pas de globules rouges nucléés.

Dans le second cas d'anémie, il y avait, avant l'injection, 2.960.000 globules rouges, 8.000 leucocytes et 28 p. 100 d'hémoglobine. Le lendemain de l'injection il y avait 5.500 leucocytes et 31 p. 100 d'hémoglobine. Chez le malade atteint de leucémie, on a trouvé avant l'injection 2.730.000 globules rouges, 310.000 globules blancs et 45 p. 100 d'hémoglobine; une semaine après l'injection il y avait 3.856.000 globules rouges, 296.000 leucocytes et 51 p. 100 d'hémoglobine; on constatait en outre la présence de myélocytes dans le sang.

Dans les expériences que nous avons faites avec M^{me} N. Kohl-Yakimoff, visant le traitement par l'arsénobenzol des animaux infectés par le *Spirochaeta Duttoni* et le *Trypanosoma gambiense*, nous avons observé une rapide disparition des spirochètes (entre six et quatorze heures), et une disparition brusque des trypanosomes (en quarante-cinq à soixante-cinq minutes). Nous avons observé en outre une destruction plus ou moins marquée des parasites à l'intérieur des phagocytes, trypanolyse, et un changement très manifeste de la formule leucocytaire. Dans ce mémoire, nous nous bornerons à l'étude de la formule leuco-

cytaire et de ses variations au cours du traitement de nos animaux par l'arsénobenzol.

Différents auteurs ont établi qu'une injection d'atoxyl détermine une hyperleucocytose qui dure au maximum neuf heures (Yakimoff), tandis que la disparition des trypanosomes de la circulation ne s'observe qu'au bout de quinze à vingt heures (Thomas et Breinl), dix heures au minimum (Yakimoff). Aussi avons-nous cru sans relation de cause à effet la leucocytose d'une part, et la disparition des trypanosomes de l'autre. Sans aucun doute, la disparition des parasites doit être attribuée non à la leucocytose, mais bien au changement chimique du sang. Nous nous sommes occupé de la durée de la leucocytose au cours de nos recherches sur le « 606 ».

Nous nous sommes également intéressé à ce que l'on appelle les « formes de dissolution ». Ces formes ont été observées par Virchow dans les cinquante ou soixante dernières années du siècle précédent. En 1880, Al. Smidt et ses élèves ont vu la dissolution des leucocytes, chez différents animaux, sous l'influence de l'injection du fibrin-ferment, de l'hémoglobine, de la pepsine, du pus, de différentes substances putrides, du curare, etc. Lövit, plus tard, a constaté la dissolution des leucocytes sous l'influence de l'injection de l'hémalbumine, de la peptone, des nucléines, d'extrait de têtes de sangsues, de l'acide urique, etc.; Zargaroff, après une injection de ricine; Szyrensky, au cours de la digestion et après l'injection du vaccin anticholérique de Kolle; Tchistowitch, chez les tuberculeux après une injection de tuberculine.

En ce qui concerne la leucocytolyse au cours des maladies, Ouskow, semble-t-il, a été le premier à émettre l'idée que le nombre des « formes de dissolution » dans certains états pathologiques de l'organisme doit augmenter. Et, en effet, Cketa-touroff, Botkin, Geissler, Zalieff, Szyrensky, Manouckin et Boulach ont confirmé les vues de Ouskow au cours de la fièvre typhoïde. Geissler, Zalieff et Boulach sont notamment arrivés à cette conclusion que la présence ou l'absence de la diazot-réaction d'Ehrlich dépend du degré de la leucocytose. Tschistowitch considère comme une indication de la crise prochaine la destruction des leucocytes.

Koudrin a vu qu'au cours de la fièvre récurrente les « formes de dissolution » étaient moins nombreuses pendant les accès qu'en dehors d'eux. Kroubmüller a trouvé que, dans la mélancolie, l'épilepsie, la manie, l'idiotie, le pourcentage des leucocytes dissous augmente. La même constatation a été faite par Fraenkel et Rider chez les leucémiques. Les résultats qu'on obtient au cours du traitement de la leucémie par les rayons de Röntgen sont particulièrement intéressants ; un grand nombre de leucocytes au cours de ce traitement se dissolvent (Acuna, Quadrone, Ouskoff et Kalatscheff, Hoffmann, Linser et Helber, Curshmann et Gaupp, etc.).

Nous devons citer encore les expériences de Nawrotzky qui a observé une diminution des « formes de dissolution » chez les animaux trypanosomés après un traitement à l'atoxyl (recherches inédites).

Un grand nombre d'expérimentateurs ont constaté la destruction des leucocytes dans les tissus (Holzmann, Hindenburg, Kraus et Schmaus, Albrecht, Maragliano, etc.).

Les « formes de dissolution » n'existent pas seulement dans le sang pathologique. E. S. Botkin a émis l'opinion que le sang normal en contient un nombre plus ou moins grand, ce qui a été confirmé par Max Carstanien, Szyrensky et Boulach et par nous-même chez nos animaux.

Nous avons fait nos recherches sur des rats blancs, des rats noirs et blancs, et sur des souris blanches. Le sang a été étudié comparativement chez des rats normaux et chez des rats infectés par le *Spirochæta Duttoni* et le *Trypanosoma gambiense*.

Chez les rats normaux, nous avons trouvé les résultats suivants : *globules rouges*, 7 à 8.600.000 ; *leucocytes*, de 8 à 13.000 (nous avons pu noter exceptionnellement 17.417, 19.899, 20.740, 23.138 et 41.985 globules blancs) ; *lymphocytes*, de 58 p. 100 à 74 p. 100 (une fois nous avons noté 44,2 p. 100) ; *gros mononucléaires*, de 1,3 p. 100 à 8 p. 100 ; *formes de transition*, de 1 p. 100 à 11,6 p. 100 ; *polynucléaires neutrophiles*, de 20 p. 100 à 36 p. 100 (une fois nous avons noté 15,4 p. 100) ; *éosinophiles*, de 0,6 p. 100 à 5,6 p. 100 ; *Mastzellen*, de 0 à 1 p. 100 ; *formes de dissolution*, de 9,2 p. 100 à 18,3 p. 100.

I. — GLOBULES BLANCS

1. RATS SAINS.

Nous avons étudié l'action de l'arsénobenzol sur les rats normaux, à doses fortes, avoisinant la dose mortelle (0,15 centigrammes du médicament par kilogramme de rat), et à doses deux fois moindres que les doses fortes précédentes.

PREMIÈRE SÉRIE. — *Doses fortes (rats n^{os} 19 et 20).* Après l'injection du « 606 », nous observons le jour même une *diminution* du nombre total des leucocytes. Cette leucopénie dure deux à trois jours; à partir de ce moment, le chiffre des leucocytes commence progressivement à s'élever pour atteindre le chiffre normal vers le cinquième jour.

En ce qui concerne la formule leucocytaire, nous avons les résultats suivants :

Bientôt après l'injection, les *lymphocytes* baissent (de 67,3 p. 100 à 47,4 p. 100 chez le rat n^o 20, et de 58,2 p. 100 à 25,4 p. 100 chez le rat n^o 19), mais ils augmentent dès le lendemain de l'injection et, au bout de deux à quatre jours, ils atteignent le chiffre normal. Nous expliquons la baisse ultérieure des lymphocytes par les complications locales qui se produisent à l'endroit de l'injection.

Le taux des polynucléaires neutrophiles varie en sens inverse de celui des lymphocytes. Le jour de l'injection, il s'élève très haut (de 36 p. 100 à 68,3 p. 100 chez le rat n^o 19, et de 25,6 p. 100 à 40,2 p. 100 chez le rat n^o 20). Mais le lendemain de l'injection et les deux jours suivants, il s'abaisse pour ensuite remonter et atteindre le niveau qu'il avait avant l'injection. D'après nous, la baisse de la courbe que l'on observe ultérieurement s'explique par les complications locales qui ont lieu au niveau de l'injection.

Les *gros mononucléaires* et les *formes de transition* augmentent légèrement après l'injection. Cette augmentation est surtout nette pour les formes de transition (chez le rat n^o 20 de 4 p. 100 à 10 p. 100), ce qui est sans aucun doute en rapport

avec l'augmentation des polynucléaires neutrophiles (formes de « mûrissement »).

Les *éosinophiles* diminuent d'abord pour augmenter ensuite. L'augmentation est maxima deux jours après l'injection.

Les *mastzellen* augmentent également; mais leur augmentation est plus tardive que celle des formes précédentes. En outre, nous avons noté des *mastzellen* chez le rat (n° 19) qui n'en présentait pas dans le sang circulant. Après leur apparition, les *mastzellen* ont à nouveau disparu.

L'étude des *formes de dissolution* révèle des faits intéressants.

Après l'injection de l'arsénobenzol, le taux de ces formes *augmente* dans les premières heures assez considérablement (de 9,3 p. 100 à 23,4 p. 100 chez le rat 19, et de 14,1 p. 100 à 41,3 p. 100 chez le rat 20), puis il *diminue*. Cette diminution dure plusieurs jours. Elle est telle que le nombre des « formes de dissolution » finit par être inférieur à la normale (2,3 p. 100 chez le rat n° 19, et 2,9 p. 100 chez le rat n° 20). A partir de quatre à cinq jours, l'augmentation des « formes de dissolution » recommence.

Ainsi, *quand on injecte aux rats sains de l'arsénobenzol à doses fortes*, on observe une *leucopénie* qui dure plusieurs jours, accompagnée d'une *augmentation des polynucléaires neutrophiles* et d'une *diminution des « formes de dissolution »* (cette diminution, comme nous l'avons dit, est précédée d'une augmentation passagère).

DEUXIÈME SÉRIE. — *Doses faibles (rats nos 29 et 30)*. Quand on injecte de l'arsénobenzol à doses deux fois moindres que dans le cas précédent, la courbe du *nombre total des leucocytes* ne baisse pas comme chez les rats de la première série, mais au contraire *s'élève* après un abaissement passager et de courte durée. Cette élévation atteint son maximum le troisième ou quatrième jour après l'injection (de 18.899 leucocytes à 28.118 chez le rat 29, et de 10.517 leucocytes à 18.216 chez le rat 30). Elle baisse ensuite et revient à la normale le sixième jour.

En ce qui concerne les variations des différentes espèces leucocytaires, nous voyons ici, comme dans la première série, *une augmentation pour cent des polynucléaires neutrophiles* (de 34,6 p. 100 à 46,8 p. 100 chez le rat 29; et de 27,6 p. 100 à

46,4 p. 100 chez le rat 30); le lendemain de l'injection cette augmentation cesse et le chiffre revient à la normale. Le taux des lymphocytes chez le rat n° 29, après l'injection du « 606 », diminue (de 44,2 p. 100 à 33,6 p. 100), mais dès le lendemain, il revient à la normale.

Chez le rat 30, la courbe des *lymphocytes* ne présente pas cette régularité.

Les *gros mononucléaires*, les *formes de transition*, les *éosinophiles* et les *mastzellen* augmentent légèrement en général; les éosinophiles chez le rat 29 apparaissent alors qu'il n'y en avait pas avant l'injection.

Dans la deuxième série d'expériences, comme dans la première, le taux des « *formes de dissolution* » diminue encore d'une manière assez appréciable (le premier jour de 16,6 p. 100 à 3,3 p. 100 chez le rat 29, et de 11,3 p. 100 à 4,4 p. 100 chez le rat 30), et cette diminution n'est pas précédée d'une augmentation comme dans la première série. Les jours suivants l'abaissement de ces formes se maintient.

Ainsi, en injectant aux rats sains de l'arsénobenzol à doses relativement petites (que l'on pourrait considérer comme des doses thérapeutiques pour ces animaux), on constate une leucocytose qui dure plusieurs jours, une certaine augmentation des polynucléaires neutrophiles, et tout de suite après l'injection une diminution des « *formes de dissolution* ».

2. RATS INFECTÉS AVEC LE SPIROCHÆTA DUTTONI.

Au cours de la période d'incubation (qui dure deux à trois jours après une injection péritonéale), le nombre total des leucocytes s'élève chez les rats infectés par le *Spirochæta Duttoni* (de 11.445 à 17.889 chez le rat 26; de 12.416 à 18.601 chez le rat 27, et de 17.417 à 23.601 chez le rat 28). A partir du jour de l'apparition des parasites dans le sang, la courbe des leucocytes baisse et arrive parfois presque au chiffre qui précédait l'infection; mais à partir du troisième jour de l'infection sanguine, la courbe des leucocytes monte de nouveau (Ce jour est d'habitude la veille de la crise).

La formule leucocytaire subit aussi des changements à partir du jour de l'infection par le *Spirochæta Duttoni*.

La courbe des polynucléaires neutrophiles augmente sans cesse et arrive à des chiffres très élevés (de 21,2 p. 100 à 51,6 p. 100 chez le rat 26; de 19,2 p. 100 à 53 p. 100 chez le rat 27; et de 20 p. 100 à 50,0 p. 100 chez le rat 28); cependant que la courbe des lymphocytes baisse et même très considérablement (de 60,8 p. 100 à 27,2 p. 100 chez le rat 26; de 61,0 p. 100 à 34,4 p. 100 chez le rat 27; et de 69,6 p. 100 à 32,4 p. 100 chez le rat 28). Les gros mononucléaires augmentent. Les éosinophiles augmentent chez le rat 26 et diminuent chez le rat 27. Les formes de transition diminuent chez les n^{os} 26 et 27, et augmentent chez le n^o 28. Le pourcentage des mastzellen varie peu. Les myélocytes apparaissent ainsi que les « Reizungsformen » de Türk (cellules irritatives).

Le nombre des globules rouges diminue; on voit apparaître les normoblastes. Quant aux « formes de dissolution », leur pourcentage augmente au cours de cette infection, et d'une manière considérable (de 10,2 p. 100 à 18,4 p. 100 chez le rat 26; de 9,7 p. 100 à 17 p. 100 chez le rat 27; et de 15,5 p. 100 à 24,7 p. 100 chez le rat 28).

A tous nos rats nous avons injecté une dose de « 606 » égale à la moitié de la dose maxima, voisine de la dose mortelle. Ainsi au rat n^o 26 (poids 304 grammes), nous avons injecté 2 c.c. 3 de la solution à 1 p. 100 au lieu de 4,5 c.c.; au rat 27 (poids 205 grammes), 1,5 c.c. au lieu de 3,3 c.c.; enfin au rat 28 (poids 140 grammes), 1 c. c. au lieu de 2,1 c.c. L'injection du « 606 » a eu lieu au deuxième ou troisième jour de l'infection sanguine.

Le nombre des leucocytes augmente d'une manière très considérable après l'injection de « 606 » (de 27.850 à 31.763 chez le rat 26; de 16.786 à 21.245 chez le rat 27 et de 22.297 à 30.332 chez le rat 28). La hausse des globules blancs est parfois précédée d'une baisse passagère. L'hyperleucocytose dure deux à trois jours. La courbe baisse ensuite et revient à la normale à peu près en cinq jours (chiffre existant avant l'infection).

La courbe des polynucléaires neutrophiles, qui monte, comme nous l'avons vu, dès le début de l'infection, s'élève très fortement après l'injection de l'arsénobenzol et atteint des chiffres très élevés (75,2 p. 100 chez le rat 26; 60,8 chez le n^o 24; 52,8 p. 100 chez le n^o 28). Ce fait permet de parler d'une véri-

table polynucléose. Mais ce phénomène ne s'observe que le jour de l'injection de l'arsénobenzol. Déjà le jour suivant la courbe baisse et arrive aux chiffres préexistant à l'infection.

Le taux des *lymphocytes*, qui avait tendance à diminuer depuis le commencement de l'infection, *diminue plus encore* après l'injection de l'arsénobenzol (11,6 p. 100 chez le n° 26; 25,2 p. 100 chez le n° 27; 21,4 p. 100 chez le n° 28). Mais le lendemain de l'injection, la courbe s'est élevée jusqu'à atteindre la normale chez les rats 27 et 28; chez le rat 26, l'élévation s'est produite plus lentement.

Le taux des *gros mononucléaires*, qui augmenté depuis le début de l'infection par le *Spirochæta Duttoni*, diminue tout d'abord après l'injection de l'arsénobenzol, pour augmenter ensuite et revenir à la normale en l'espace de quelques jours.

Le taux des *formes de transition* chez les rats 26 et 27 *diminue*, et chez le rat 28 *augmente*.

Le taux des *éosinophiles diminue*, et le taux des *Mastzellen* chez les rats 26 et 27 *diminue jusqu'à complète disparition*.

Quant aux *formes de dissolution*, chez les rats 26 et 28 leur nombre, tout de suite après l'injection de l'arsénobenzol, diminue (de 11,4 p. 100 à 7,4 p. 100 chez le rat 26; et de 24,7 à 11,0 p. 100 chez le rat 28); mais chez le rat 27, il y a au contraire augmentation (de 7,7 p. 100 à 11,1 p. 100). Chez le rat n° 26, la courbe, qui s'est un peu élevée le lendemain, a baissé les jours suivants et est même arrivée à un chiffre inférieur à celui qui précédait l'infection (4 p. 100). La courbe des rats 27 et 28 est allée régulièrement en s'abaissant (jusqu'à 3,4 p. 100 chez le rat 27; et jusqu'à 4,9 p. 100 chez le rat 28).

En résumant les observations de cette série d'expériences, on peut dire qu'*au cours de l'infection par le Spirochète de Dutton, l'injection de l'arsénobenzol chez les rats blancs provoque une hyperleucocytose considérable, qui dure quelques jours, avec polynucléose et diminution du taux des « formes de dissolution ».*

3. RATS INFECTÉS AVEC LE TRYPANOSOMA GAMBIENSE.

Les rats 22, 23, 24, 31, 33 et 12 ont été infectés par la voie péritonéale; les parasites apparaissaient dans le sang deux à quatre jours après l'infection.

Après l'introduction du virus, le nombre total des leucocytes diminue généralement. Il augmente cependant chez le rat 33. Ainsi, pour ce qui est de la formule leucocytaire, l'infection par le *Trypanosoma gambiense* diffère de l'infection par le *Spirochaeta Duttoni*.

Par contre, le taux des lymphocytes baisse comme dans l'infection spirochétique (par exemple, il passe de 74,0 p. 100 à 62,0 p. 100 chez le rat 22; de 67,2 p. 100 à 46,0 p. 100 chez le rat 24; de 61 p. 100 à 49,2 p. 100 et 53,2 p. 100 chez le rat 33). Les polynucléaires neutrophiles augmentent (de 45,4 p. 100 à 26,4 p. 100 chez le rat 22; de 24,0 p. 100 à 41,4 p. 100 chez le rat 24; de 16,4 p. 100 à 32,8 p. 100 chez le rat 31, et de 25,2 p. 100 à 32,8 p. 100 chez le rat 33). Le pourcentage des gros mononucléaires, des éosinophiles et des mastzellen augmente: celui des formes de transition diminue. Les myélocytes et les « Reizungsformen » de Türk apparaissent. Le pourcentage des « formes de dissolution » atteint parfois des chiffres élevés (de 9,2 p. 100 à 29,7 p. 100 chez le rat 24; de 7,4 p. 100 à 15,1 p. 100 chez le rat 33; et 25 p. 100 chez le rat 12). Le nombre des globules rouges diminue. On voit apparaître les normoblastes.

Les rats 12, 22, 23 et 24 ont été traités par de fortes doses d'arsénobenzol; et les rats 31 et 33 par des doses faibles.

1. Le rat 22 a reçu 2,80 centimètres cubes de la solution à 1 p. 100 à la période d'incubation, quand il n'y avait pas encore de trypanosomes dans le sang. La courbe du nombre total des leucocytes qui était en baisse au moment de l'injection baisse encore davantage. Il y avait 26.890 leucocytes au moment de l'injection; 4 h. 40 après il n'y avait plus que 16.112 leucocytes. La courbe des leucocytes s'est élevée les jours suivants, mais lentement, pour atteindre le chiffre préexistant à l'injection du médicament trois jours après cette injection, et le chiffre préexistant à l'infection trypanosomienne sept jours après l'injection du « 606 ».

La formule hémoleucocytaire varie. Il y a diminution des lymphocytes (de 62 p. 100 à 42,4 p. 100) et augmentation des polynucléaires neutrophiles (de 17,0 p. 100 à 23,0 p. 100). Mais la formule leucocytaire revient dès le lendemain à ce qu'elle était avant l'injection de l'arsénobenzol.

Le pourcentage des *gros mononucléaires*, des *éosinophiles* et des *mastzellen* diminue; celui des *formes de transition* augmente.

Le pourcentage des *formes de dissolution* augmente le jour de l'injection et diminue les jours suivants (il était de 11,3 au moment de l'injection, le lendemain 9,9 p. 100 et le troisième jour 4,8 p. 100).

Ainsi, le tableau leucocytaire qui suit les injections de fortes doses de « 606 » aux rats encore à la période d'incubation de l'infection par le *Tryp. gambiense*, est identique à celui que nous avons observé chez les rats normaux traités eux aussi par de fortes doses.

2. Si le « 606 » est injecté en pleine infection sanguine, et cela *quelle que soit la dose dont on se sert*, on observe, au lieu de la leucopénie dont nous avons déjà parlé, une *Hyperleucocytose*, parfois considérable, précédée souvent d'une diminution de courte durée du nombre des leucocytes. Cette hyperleucocytose atteint son maximum le jour même ou le lendemain de l'injection médicamenteuse; nous comptons alors 18.848 leucocytes chez le rat 23, au lieu de 7.572 qui est le chiffre initial; 49.875 chez le rat 24 au lieu de 14.682; 48.595 chez le rat 31 au lieu de 6.479, et 17.572 chez le rat 33 au lieu de 13.501. Le lendemain du maximum, la courbe leucocytaire s'abaisse et, le quatrième jour, elle est telle qu'elle était avant l'infection.

Le pourcentage des *lymphocytes*, qui baissait au cours de l'infection, *baisse* encore plus après l'injection de l'arsénobenzol (de 37,4 p. 100 chez le rat 23, il tombe à 33,4 p. 100; de 44 p. 100 chez le rat 31, à 22 p. 100; et de 54,4 p. 100 chez le rat 12, à 33,4 p. 100). Mais cette baisse ne dure d'habitude que quelques heures et la courbe peut s'élever (quelquefois le jour même) et dépasser les limites existant avant l'injection (elle atteint 58,3 p. 100 chez le rat 24; 68,2 p. 100 chez le rat 31; et 65,2 p. 100 chez le rat 33). Cette hausse dure habituellement un jour. La courbe redescend et atteint l'état qui précédait l'infection le quatrième ou le sixième jour qui suit l'injection de l'arsénobenzol. Le rat 24 n'a pas présenté l'abaissement initial de la courbe; celle-ci s'est élevée de suite après l'injection.

Le pourcentage des *polynucléaires neutrophiles* qui avait tendance à monter, au cours de l'infection, *s'élève* encore après l'in-

jection de l'arséno-benzol. Chez le rat 23 il passe de 44,4 p. 100 à 55,4 p. 100; chez le rat 31, de 32,8 p. 100 à 52,4 p. 100.

Mais d'habitude cette élévation ne s'observe que quelques heures et la courbe baisse ensuite. Avec de fortes doses d'arsénobenzol, cette baisse amène les polynucléaires neutrophiles à un chiffre moindre que celui qui existait avant l'infection (rats 12 et 24); avec des doses plus faibles, cette baisse n'est jamais telle que le nombre des polynucléaires neutrophiles devienne moindre que celui qui existait avant l'infection (rats 31 et 33).

Le pourcentage des *gros mononucléaires* et des *éosinophiles* diminue en somme dans les premières heures qui suivent l'injection du « 606 », tandis que le nombre des *formes de transition* et des *mastzellen* augmente. Mais ensuite (parfois le même jour) ce phénomène change en sens contraire.

Le pourcentage des *formes de dissolution* augmente parfois légèrement durant les premières heures qui suivent l'injection, pour baisser ensuite le jour même. La baisse dure plusieurs jours, et elle peut être assez considérable de 17,0 p. 100 chez le rat 23 à 11,2 p. 100; de 15,7 p. 100 à 3,4 p. 100 chez le rat 24; de 23,3 p. 100 à 6,1 p. 100 chez le rat 31; de 15,1 p. 100 à 3,6 p. 100 chez le rat 33, et de 25 p. 100 à 7,6 chez le rat 12).

Ainsi, l'injection de l'arsénobenzol, faite à des rats en pleine période d'infection sanguine par le *Trypanosoma gambiense*, provoque une leucocytose parfois considérable. Cette leucocytose dure plusieurs jours. En même temps on observe, le jour de l'injection, une polynucléose et une diminution du taux des *formes de dissolution*.

II. — GLOBULES ROUGES

Nous avons injecté au rat 19 et aux souris 84 et 85 des doses maxima d'arsénobenzol. Le « 606 » d'Ehrlich n'a eu aucune action sur les globules rouges, et le nombre total de ceux-ci n'a pas varié. Ces résultats sont intéressants à rapporter, car l'émétique étudiée par Leger provoque une diminution des globules rouges, diminution, il est vrai, de courte durée; et le trypanroth, ainsi que l'ont vu Yakimoff et Nina Kohl-Yakimoff, les détruit faiblement les premiers jours.

Chez le rat 28, infecté par le *Spirochaeta Duttoni*, et les

rats 23, 24 et 31, infectés par le *Trypanosoma gambiense*, le nombre des globules rouges diminue légèrement les premiers jours, pour augmenter de nouveau et revenir à la normale.

CONCLUSIONS

En se basant sur tout ce que nous avons dit plus haut, il faut conclure que l'arsénobenzol provoque, dans la vie des éléments figurés du sang, des changements notables. Ces changements sont presque identiques chez les animaux sains et chez les animaux infectés avec le *Spirochaeta Duttoni* et le *Trypanosoma gambiense*.

Tout d'abord, il faut noter l'augmentation du nombre total des leucocytes, augmentation qui dure plusieurs jours. Seuls, les rats sains qui ont reçu de fortes doses d'arsénobenzol paraissent faire exception. Au lieu d'une hyperleucocytose nous voyons chez eux, au contraire, une leucopénie. Mais il n'y a là qu'une différence apparente. Dans les cas où l'on constate une hyperleucocytose très marquée, celle-ci ne fait que succéder à une diminution des leucocytes, diminution plus ou moins marquée. Donc, la phase initiale de l'action de l'arsénobenzol, et cela indépendamment des doses injectées et de l'état des animaux (sains et infectés), consiste en une diminution du nombre des leucocytes. Il nous paraît donc juste de dire que l'action de l'arsénobenzol se traduit d'abord par l'inhibition des organes hématopoiétiques, puis par leur excitation. La différence entre les animaux qui ont une leucopénie très nette et durable et ceux qui n'ont qu'une leucopénie légère et passagère, suivie bientôt d'une hyperleucocytose, est due à ce que l'emploi de fortes doses d'arsénobenzol détermine une inhibition des organes hématopoiétiques plus durable que l'emploi des petites doses. Celles-ci ne déterminent qu'une inhibition de quelques heures, bientôt suivie d'une excitation. Si la leucopénie des fortes doses n'est pas suivie d'hyperleucocytose, cela est probablement dû à ce fait, qu'au moment où l'inhibition des organes hématopoiétiques cesse, la plus grande partie de l'arsénobenzol est déjà éliminée, et qu'il ne reste plus de médicament en quantité suffisante dans l'organisme de l'animal pour provoquer l'excitation des organes hématopoiétiques.

En outre, la première phase, qui se caractérise par la diminution du nombre total des leucocytes, peut être expliquée non seulement par une action d'inhibition de l'arsénobenzol sur les organes hématopoïétiques, mais aussi par la destruction immédiate des leucocytes dans le torrent circulatoire même. L'augmentation des « formes de dissolution » au moment de cette phase semble le laisser supposer.

La diminution des « formes de dissolution » est à nos yeux un fait important. Cette diminution peut être considérable.

Il en résulte que la défense de l'organisme n'en est que renforcée; phénomène, nous le répétons, d'une grande importance.

Mais, tout d'abord, la question se pose de savoir si la variation du nombre des « formes de dissolution » n'est pas en rapport avec le changement du nombre total des leucocytes. En effet, dès le commencement de l'action de l'arsénobenzol, nous voyons, à côté de l'augmentation du pourcentage des « formes de dissolution », une diminution du nombre total des leucocytes. Cela paraît marcher de pair. Mais, plus tard, à la diminution du nombre total des leucocytes correspond une diminution du pourcentage des « formes de dissolution ».

De cela on peut conclure que l'arsénobenzol préserve, par un mécanisme qui nous est encore inconnu, les leucocytes de la destruction, qui a eu lieu non seulement sous l'influence des parasites sanguins, mais encore dans les conditions naturelles de la vie. On ne peut, à ce point de vue, refuser un rôle important à l'arsénobenzol.

La médication d'Ehrlich amène un changement dans la formule leucocytaire. Ce changement se fait suivant deux phases. Dans la première phase, le taux des lymphocytes diminue (et cela assez considérablement), cependant que le pourcentage des polynucléaires neutrophiles s'élève. Mais ce phénomène ne s'observe que le jour de l'injection de l'arsénobenzol, peut-être même seulement quelques heures après (voir rat n° 27). Le lendemain de l'injection a lieu la phase suivante. Le rapport des éléments figurés varie en sens inverse; le pourcentage des lymphocytes augmente et celui des polynucléaires neutrophiles diminue.

Tâchons d'analyser ce phénomène.

Les lymphocytes, d'après Ouskoff, sont des éléments jeunes,

les polynucléaires neutrophiles sont des éléments vieux, au terme de leur existence. En tenant compte de ces données, l'action de l'arsénobenzol se traduit de la façon suivante :

Dans les premières heures de son action, l'arsénobenzol précipite la fin de l'existence des éléments jeunes du sang, ce qui se traduit par un mûrissement rapide (augmentation du taux des mononucléaires et des formes de transition) et par un vieillissement précoce (augmentation du taux des polynucléaires neutrophiles). Parallèlement, on observe une diminution du nombre total des leucocytes et une augmentation des « formes de dissolution ». Quand les éléments du sang qui ont eu les diverses étapes de leur évolution précipitées par l'action du « 606 » se sont éliminés du courant circulatoire, l'arsénobenzol excite les organes hématopoiétiques. De là la mise en circulation de formes jeunes, résistantes, plus aptes à lutter avec le principe infectant; de là l'augmentation du nombre des lymphocytes avec une diminution parallèle des « formes de dissolution ».

Donc, d'après nous, l'arsénobenzol agit de deux façons indépendantes l'une de l'autre :

1° Il agit sur les éléments du sang en circulation, en forçant les éléments jeunes à mûrir plus rapidement (augmentation des formes vieillissantes, et leur destruction). Nous assistons, pour ainsi dire, à « l'action purifiante » de l'arsénobenzol.

2° Il agit sur les organes hématopoiétiques d'abord en les inhibant, d'où une leucopénie plus ou moins grande; ensuite en les excitant, d'où hyperleucocytose et apparition de nouveaux éléments (« action régénératrice » de l'arsénobenzol).

Tous ces phénomènes sont incontestablement en relation avec la destruction des parasites sanguins. En étudiant des séries de préparations à des moments différents de l'action de l'arsénobenzol sur les trypanosomes, nous avons pu saisir deux modes de destruction des parasites : la trypanolyse et la phagocytose.

Dans la première, interviennent les humeurs de l'organisme qui ont, du fait du « 606 », subi certains changements. La deuxième dépend étroitement des éléments figurés du sang, et se trouve en rapport avec les modifications de ces éléments.

Quant à l'action de l'arsénobenzol sur les globules rouges, elle paraît être nulle. Nos expériences ne nous permettent pas de dire quoi que ce soit au sujet de la régénération des globules rouges. Ayant observé, chez les animaux infectés avec le *Trypanosoma gambiense* et le *Spirochæta Duttoni*, l'augmentation du nombre des globules rouges après l'emploi de l'arsénobenzol, nous pouvons à juste titre, semble-t-il, rapporter ce fait à la disparition des *parasites du sang*.

*
* *

Après avoir écrit ce qui précède, M. le professeur Mesnil nous a conseillé d'examiner, au point de vue de la formule hémoleucocytaire, le sang de deux singes que nous avons traités par des injections d'arsénobenzol. Le premier singe est un singe neuf qui a été utilisé simplement en vue de déterminer la dose d'arsénobenzol susceptible d'être injectée; le deuxième singe était préalablement infecté par le *Trypanosoma gambiense*.

A. Singe sain n° 55 (*Macacus rhesus*), 3.200 grammes. Ce singe reçoit dans les muscles, sous forme d'une solution à 2 p. 100, 0,30 grammes d'arsénobenzol. Avant l'injection, 18.973 leucocytes. Six heures après, 38.536. Le lendemain, 16.071. Le taux des *lymphocytes* après l'injection baisse (de 15,6 p. 100 à 10,4 p. 100); par contre, le taux des *polynucléaires neutrophiles* monte (de 68,2 p. 100 à 77,2 p. 100). Le lendemain de l'injection, la courbe des lymphocytes s'élève à un chiffre supérieur à celui qui existait avant l'injection (46,4 p. 100); par contre, la courbe des polynucléaires neutrophiles baisse (jusqu'à 44,4 p. 100).

Après l'injection, le taux des gros mononucléaires et des formes de transition augmente; celui des éosinophiles baisse légèrement. Le lendemain de l'injection, nous voyons un phénomène contraire.

Six heures après l'injection, le taux des *formes de dissolution* augmente légèrement (atteignant 25,4 p. 100); le lendemain, il baisse jusqu'à 7,9 p. 100.

Avant l'injection de l'arsénobenzol, il y avait dans le sang

12,4 p. 100 des myélocytes; après l'injection, ce chiffre de 12,4 p. 100 a baissé très nettement jusqu'à 2,8 p. 100.

Il faut ajouter qu'après l'injection de l'arsénobenzol apparaissent dans le sang les « Reizungsformen » de Türk.

B. *Singe infecté de T. gambiense* n° 53, 3.200 grammes. Onze jours après l'infection trypanosomienne, alors que le sang contient beaucoup de trypanosomes, on observe chez ce singe une diminution du taux des lymphocytes (de 58 p. 100 à 42,4 p. 100) et une augmentation des polynucléaires neutrophiles (de 36,4 p. 100 à 51 p. 100). Le taux des gros mononucléaires augmente légèrement; les formes de transition, les éosinophiles et les leucocytes diminuent; les Mastzellen disparaissent. Le taux des « formes de dissolution » augmente nettement (de 12,7 p. 100 à 26,5 p. 100). Les « Reizungsformen » de Türk apparaissent.

Cinq heures après l'injection de l'arsénobenzol (de 0,05 gr. par kilo), le nombre total des leucocytes augmente (de 12.705 jusqu'à 19.520); le lendemain il est encore plus élevé et atteint 36.264 leucocytes. Trois jours après l'injection, le chiffre des leucocytes commence à diminuer.

Il est intéressant de comparer les variations de la formule hémoleucocytaire chez les singes et chez les rats; ces variations ne sont pas foncièrement différentes, mais elles ne sont pas non plus rigoureusement superposables.

Ainsi, chez le singe comme chez le rat, on observe une *diminution du taux des lymphocytes* et une augmentation du nombre des polynucléaires neutrophiles. Mais ces variations sont très différentes, quant à *leur durée*, suivant qu'il s'agit du singe ou du rat.

Chez le rat, la baisse du taux des lymphocytes et l'augmentation des polynucléaires neutrophiles ne dure que quelques heures. Le lendemain (et parfois le jour même) on assiste à un phénomène contraire : élévation de la courbe des lymphocytes, abaissement des polynucléaires neutrophiles. Puis tout rentre dans la normale en quelques jours seulement.

Chez le singe, au contraire, l'abaissement de la courbe des lymphocytes et l'élévation de la courbe des polynucléaires neutrophiles durent non seulement le jour de l'injection, mais

encore le lendemain; ce n'est que le troisième jour que tout rentre dans l'ordre.

Le taux des gros mononucléaires, des formes de transition, des éosinophiles et des Mastzellen augmente. La courbe des « formes de dissolution » baisse, cinq heures après l'injection, de 26,5 p. 100 à 15,2 p. 100, pour continuer à baisser les jours suivants. Les « Reizungsformen » de Türk augmentent après l'injection et disparaissent le même jour.

Cet ensemble de faits établit que la réaction leucocytaire chez les singes, aussi bien sains qu'infectés avec le *Trypanosoma gambiense*, est sensiblement la même que chez les rats.

En terminant ce travail, nous tenons à assurer M. le professeur Mesnil de notre profonde gratitude pour l'accueil gracieux qu'il a bien voulu nous faire durant plusieurs mois dans son laboratoire et les précieux conseils qu'il nous a donnés au cours de nos travaux.

Le Gérant : G. MASSON.

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.